

明細書

デジタル細胞

技術分野

5 本発明は、細胞の解析技術の分野にある。より詳細には、同一の環境にある細胞のプロファイルを提供する方法およびそのためのシステム、ならびにそのような技術によって得られたデータおよびデータ配列技術ならびにデジタル細胞技術に関する。以下に発明の詳細な説明を説明する。

10

背景技術

生物の生存は、細胞外シグナルを認知し、そしてその細胞外シグナルに応答するそれらの能力に依存する。分子レベルにおいて、シグナルは、細胞のホメオスタシスを維持するように協同して作用し、そして増殖、分裂および分化のような活性を調節する相互作用タンパク質のネットワークを介して、認知され、
15 そして伝達される。生物学的シグナル伝達ネットワークを通じた情報伝達は、主に、シグナルに応答して動的に集合および分解し得るタンパク質-タンパク質相互作用によって媒介され、外部事象を遺伝子発現における変化のような特定の結果に連結させる一過性の回路を作製する。これらのネットワークの基礎となるタンパク質-タンパク質相互作用をマップするために、多数の戦略が開
20 発されている、そしてこれらの研究は、集合的に、*Saccharomyces cerevisiae* および他の生物について、ゲノム全体にわたるタンパク質-タンパク質相互作用の輪郭を描く豊富なデータを提供している。これらの手段は、非常に強力であるが、部分的に完成した像を提供するだけであって、おそらく、微妙な状況にある多くの相互作用（その相互作用は、それらの適切な
25 シグナルが存在する場合にのみ、形成される）を見逃している。

変異または低分子によるタンパク質-タンパク質相互作用の崩壊は、細胞表

現型における大きな変化を誘発するシグナル伝達ネットワークの小さな混乱を可能にする生物学的な支柱を作製し得るが、所定のシグナル伝達経路における全てのタンパク質－タンパク質相互作用がこの力を保有するわけではないようである。従って、調節性タンパク質－タンパク質相互作用を同定することを目的とする補完的な戦略が、シグナル伝達研究および先導する開発の両方において、特別な役割を果たす。この点からして、タンパク質－タンパク質相互作用を規定し、そしてその相互作用に混乱を起こす相補的な手段とは、細胞中へタンパク質またはペプチドを人工的に導入し（これは、目的の内因性調節相互作用と競合し、そしてその関係を崩す（*t i t r a t e - o u t*）。それによって外部シグナルを細胞応答に連結させる正常な回路を破壊することである。機能的なアッセイ（例えば、シグナルに応答した遺伝子の活性化）とこの戦略を合わせることによって、機能的な妨害についてのスクリーニングは、調節性タンパク質－タンパク質相互作用を混乱させるペプチドを同定するために使用され得る。この戦略（しばしば、ドミナント妨害遺伝学またはドミナントネガティブ遺伝学と称される）は、いくつかのモデル生物において好首尾に使用され（ここで、高スループットのスクリーニング方法が、容易に適用されている、そして哺乳動物においてより少ない程度で使用されている（旧来、哺乳動物は、この型のスクリーニングの対象となりにくい）。ドミナントネガティブ戦略の1つの能力は、この戦略が機能的に関連するタンパク質－タンパク質相互作用の「支柱の点」の位置を正確に示し、それによって、外部の因子による機能的な調節を受けやすいタンパク質ネットワークの大きな網の中で、少ない数の中心点をあらわにすることである。従って、ドミナントネガティブ戦略の結果は、特定の経路を規定する調節成分に関する極めて重大な情報を提供し得、そして薬物スクリーニングプログラムによって標的化するのに適した重要なタンパク質－タンパク質相互作用を解明し得る。

哺乳動物においてドミナントネガティブスクリーニングを開発する際の進行

を妨げるもののうちの1つは、トランスフェクト細胞またはトランスジェニック生物の作製である。この問題に取り組むための1つの手段として高効率のレトロウイルストランスフェクションが開発されている。このレトロウイルストランスフェクションは、強力であるが、ウイルス中間体にパッケージングされるDNAの作製を必要とし、全ての適用に適切な戦略ではない。相補的な手段として、高密度トランスフェクションアレイすなわち細胞アレイの使用が提唱されている。

Rosetta Inpharmaticsは、種々の特許出願において、細胞の情報をプロファイルとして提供することを提案している（特表 2003-505038 号；特表 2003-505022 号；特表 2002-533701 号；特表 2002-533700 号；特表 2002-533699 号；特表 2002-528095 号；特表 2002-526757 号；特表 2002-518021 号；特表 2002-518003 号；特表 2002-514804 号；特表 2002-514773 号；特表 2002-514437 号）。しかし、このようなプロファイルは、いずれも、環境の異なる別々の細胞からの情報を連続情報としてではなく、別個の情報の集合として処理しており、真の意味で、同一条件で、一個の（同じ）細胞に注目した情報解析を行っていないという点で限界がある。特に、このような技術では、ある変化の前後の特定の各一時点のみに注目して解析がなされており、ある一点（遺伝子）がとる時間的変化のプロセスを解析するものではない。

プロファイルまたはプロファイリングについては、近年の技術の進歩により、細胞の構成要素を正確に測定すること、それゆえにプロファイルを導出することが可能になってきている（例えば、Schena ら, 1995, Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA micro - array, Science 270:467 - 470 ; Lockhart ら, 1996, Expression monitoring by hybridization to high - density oligonucleotide arrays, Nature Biotechnology 14:1675-1680 ;

Blanchard ら, 1996, Sequence to array: Probing the genome's secrets, Nature Biotechnology 14:1649; 米国特許第 5,569,588 号)。

ゲノム全体が知られている生物では、その細胞内の全遺伝子の転写産物を分析することが可能である。ゲノムの情報が増えつつあるヒトのような他の生物の場合には、細胞内の多数の遺伝子を同時にモニタリングすることが可能である。

アレイ技術の進展により、薬物探索の分野などでもアレイが使用されている (例えば、Marton ら, 1998, Drug target validation and identification of secondary drug target effects using Microarrays, Nat Med. 1998 Nov;4(11):1293-301; Gray ら, 1998,

Exploiting chemical libraries, structure, and genomics in the search for kinase inhibitors, Science 281:533-538)。プロファイルを用いた解析 (例えば、米国特許第 5,777,888 号を参照) およびプロファイルのクラスター化は、細胞の状態の詳細な解析、移植、薬物の分子標的ならびに薬物候補および/または薬物の関連機能、効力および毒性に関する情報を与える。このような比較は理想的な薬物活性または疾病状態を表す共通のプロファイルを誘導するためにも使用できる。さらに、プロファイルの比較は、患者の疾病を初期段階で検出するのに役立ち、病気があると診断された患者のための改善された臨床結果の予測を提供することができる。

しかし、真の意味で同一条件下で同じ細胞に関する情報を提供した例はいま
だなく、上述の技術では、ヘテロな細胞集団の平均値としてデータが提示されることから、そのようなデータに基づく種々の解析および評価は、正確性に欠けるという欠点が存在する。従って、真の意味での細胞レベルでの状態を提示するための方法への需要が高まっている。

本発明は、細胞の情報 (プロファイル)・データを得る方法を提供することを課題とする。本発明はまた、同一の環境条件下で、細胞の状態に関する情報・データを得る方法、およびそのようなデータを正確に提示するための方法およ

びシステムを提供することを課題とする。特に、同一環境条件で細胞レベルでの情報を、複雑系という観点でそのままあるいは直接的に提示するシステムおよび方法ならびにそのようなデータおよびデータ配列技術そのものを提供することを課題とする。本発明はさらに、デジタル細胞およびその利用法を提供することを課題とする。

発明の要旨

上記課題は、細胞を支持体上に固定して、細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロファイルのデータを生成することによって解決された。これにより、細胞のプロファイルを連続的に収集することが可能になる。また、このデータ生成により、細胞の連続状態を再現することが可能となり、デジタル細胞を生成することが可能となった。

上記課題はまた、複数の細胞を同一環境下に配置することができる支持体を提供することによって解決された。そのような支持体は、例えば、塩またはアクチン作用物質、好ましくは塩およびアクチン作用物質の両方を使用して細胞を固定することによって達成された。これにより、同一環境下に配置された同一種類の細胞のプロファイルを同時にかつ同一条件下で収集することが可能になった。

従って、本発明は、以下の発明を提供する。

(1) 同一環境にある細胞の情報に関するプロファイルデータを生成する方法であって、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上に配置する工程；および

b) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルのデータを生成する工程；を包含する、方法。

(2) 上記生物学的因子は、核酸分子または上記核酸分子に由来する分子である、項目 1 に記載の方法。

(3) 上記細胞は、a) 正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体；および b) 塩、を含む、組成物によって、上記支持体に固定される、項目 1
5 に記載の方法。

(4) 上記細胞には、アクチン作用物質が提供される、項目 1 に記載の方法。

(5) 上記細胞は、a) 正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体；および b) 塩、を含む、組成物によって、上記支持体に固定され、かつ、アクチン作用物質が提供される、項目 1 に記載の方法。

10 (6) 上記生物学的因子は、核酸分子、タンパク質、糖鎖、脂質、低分子、それらの複合分子からなる群より選択される、項目 1 に記載の方法。

(7) 上記細胞は、モニター前に少なくとも約 3 日間培養される、項目 1 に記載の方法。

(8) 上記生物学的因子は、遺伝子をコードする核酸分子を含む、項目 1 に
15 記載の方法。

(9) 上記プロファイルは、遺伝子発現のプロファイルを含む、項目 1 に記載の方法。

(10) 上記プロファイルは、アポトーシスシグナルのプロファイルを含む、項目 1 に記載の方法。

20 (11) 上記プロファイルは、ストレスシグナルのプロファイルである、項目 1 に記載の方法。

(12) 上記プロファイルは、分子の局在化に関するプロファイルである、項目 1 に記載の方法。

(13) 上記分子は、蛍光、燐光、放射性物質またはその組み合わせにて標
25 識される、項目 1 2 に記載の方法。

(14) 上記プロファイルは、細胞形態の変化を含む、項目 1 に記載の方法。

(15) 上記プロファイルは、プロモーターのプロファイルを含む、項目1に記載の方法。

(16) 上記プロファイルは、特定薬剤依存性のプロモーターのプロファイルを含む、項目1に記載の方法。

- 5 (17) 上記プロファイルは、特定薬剤依存性のプロモーターのプロファイルを含み、上記特定薬剤を投与するさらに工程を含む、項目1に記載の方法。

(18) 外来因子が上記細胞に提供される工程をさらに包含する、項目1に記載の方法。

(19) 上記外来因子は、RNAiを含む、項目18に記載の方法。

- 10 (20) 上記外来因子は、生体に存在しない化学物質を含む、項目18に記載の方法。

(21) 上記プロファイルは、分子間相互作用のプロファイルを含む、項目1に記載の方法。

- 15 (22) 上記外来因子は、上記細胞のレセプターに対するリガンドを含む、項目18に記載の方法。

(23) 上記プロファイルは、レセプターリガンド相互作用のプロファイルを含む、項目1に記載の方法。

- 20 (24) 上記プロファイルは細胞形態であり、上記方法は、遺伝子の過剰発現、過小発現もしくはノックダウン、外来因子の添加および環境の変化からなる群より選択される、刺激を上記細胞に与える工程をさらに包含する、項目1に記載の方法。

(25) 上記プロファイルは、上記細胞内に存在する分子間の相互作用のプロファイルを含む、項目1に記載の方法。

- 25 (26) 上記方法は、ツーハイブリッド法、FRETおよびBRETからなる群より選択される技術を用いた観察を行う工程をさらに包含する、項目1に記載の方法。

(27) 上記プロファイルは、上記細胞内に存在する分子間の相互作用のプロファイルを含み、上記方法は、ツーハイブリッド法、FRETおよびBRETからなる群より選択される技術を用いた観察を行う工程をさらに包含する、項目1に記載の方法。

5 (28) 上記細胞は、上記支持体上にアレイ状に配置される、項目1に記載の方法。

(29) 上記細胞は、上記支持体上にアレイ状に配置され、上記複数の細胞は、各々が最大1mmの間隔をあけて配置される、項目1に記載の方法。

(30) 上記プロファイルはリアルタイムに得られる、項目1に記載の方法。

10 (31) 上記細胞を固相支持体に固定する工程をさらに包含する、項目1に記載の方法。

(32) 上記データは、上記プロファイルに関する情報を含む、項目1に記載の方法。

15 (33) 上記データは、上記モニターにおける条件に関する情報を含む、項目1に記載の方法。

(34) 上記データは、上記細胞の状態に関する情報を含む、項目1に記載の方法。

(35) 上記モニターされる生物学的因子は、少なくとも2種の生物学的因子を含む、項目1に記載の方法。

20 (36) 上記モニターされる生物学的因子は、少なくとも3種の生物学的因子を含む、項目1に記載の方法。

(37) 上記モニターされる生物学的因子は、少なくとも8種の生物学的因子を含む、項目1に記載の方法。

25 (38) 生物学的因子を任意に選択する工程をさらに包含する、項目1に記載の方法。

(39) 上記細胞は、幹細胞および体細胞からなる群より選択される、項目

1に記載の方法。

(40) 上記支持体は、固相支持体を含む、項目1に記載の方法。

(41) 上記支持体は、基板を含む、項目1に記載の方法。

5 (42) 上記生物学的因子は核酸分子であり、上記細胞は、上記核酸分子でトランスフェクトされる、項目1に記載の方法。

(43) 上記トランスフェクトは固相上または液相中で行われる、項目42に記載の方法。

(44) 上記トランスフェクトは固相上で行われる、項目42に記載の方法。

10 (45) 上記プロファイルの位相を比較する工程を包含する、項目1に記載の方法。

(46) 上記細胞のプロファイルとコントロールプロファイルとの差分をとる工程を包含する、項目1に記載の方法。

15 (47) 上記プロファイルは、信号処理法および多変量解析からなる群より選択される数学処理により処理される工程をさらに包含する、項目1に記載の方法。

(48) 同一環境にある細胞の情報に関するプロファイルデータを提示方法であって、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上に配置する工程；

20 b) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルのデータを生成する工程；および

c) 上記データを提示する工程、
を包含する、方法。

(49) 上記提示はリアルタイムである、項目48に記載の提示方法。

25 (50) 上記提示は、視覚で感知されるように行われる、項目48に記載の方法。

(51) 上記提示は、聴覚で感知されるように行われる、項目48に記載の

方法。

(52) 同一環境にある細胞の状態を判定する方法であって、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上に配置する工程；

5 b) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルのデータを生成する工程；および

c) 上記データから上記細胞の状態を判定する工程、
を包含する、方法。

(53) 上記プロファイルと上記細胞の状態とを予め相関付ける工程をさらに包含する、項目52に記載の方法。

10 (54) 上記細胞は、状態が既知の細胞を含む、項目52に記載の方法。

(55) 上記生物学的因子は、少なくとも2種存在する、項目52に記載の方法。

(56) 上記生物学的因子を任意に選択する工程をさらに包含する、項目52に記載の方法。

15 (57) 上記データは、リアルタイムで生成される、項目52に記載の方法。

(58) 上記状態は、分化状態、未分化状態、外来因子に対する細胞応答、細胞周期および増殖状態からなる群より選択される、項目52に記載の方法。

(59) 上記細胞は、幹細胞および体細胞からなる群より選択される、項目52に記載の方法。

20 (60) 上記固相支持体は、基板を含む、項目52に記載の方法。

(61) 上記生物学的因子は核酸分子であり、上記細胞は上記核酸分子でトランスフェクトされる、項目52に記載の方法。

(62) 上記トランスフェクトは固相上または液相中で行われる、項目61に記載の方法。

25 (63) 上記生物学的因子は、他の生物学的因子に結合する能力を有する、項目52に記載の方法。

(64) 上記判定工程 c) は、上記プロファイルの位相を比較することを包含する、項目 52 に記載の方法。

(65) 上記判定工程 c) は、上記プロファイルとコントロールプロファイルとの差分をとる工程を包含する、項目 52 に記載の方法。

5 (66) 上記判定工程 c) は、信号処理法および多変量解析からなる群より選択される数学処理を包含する、項目 52 に記載の方法。

(67) 外来因子と、上記外来因子に対する細胞の応答とを相関付ける方法であって、

10 a) 細胞を、複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上で、外来因子に曝露する工程；

b) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルのデータを生成する工程；および

c) 上記外来因子と、上記プロファイルとを相関付ける工程；を包含する、方法。

15 (68) 上記細胞は、上記支持体に固定される、項目 67 に記載の方法。

(69) 少なくとも 2 つの上記外来因子を使用して、各外来因子に対するプロファイルを得る工程をさらに包含する、項目 67 に記載の方法。

20 (70) 少なくとも 2 つの上記プロファイルを類別することにより、上記プロファイルに対応する外来因子を類別する工程をさらに包含する、項目 67 に記載の方法。

(71) 上記プロファイルは、リアルタイムで提示される、項目 70 に記載の方法。

(72) 上記細胞は、アレイ上で培養される、項目 67 に記載の方法。

25 (73) 上記工程 (b) におけるプロファイルのモニターは、上記アレイから画像データを得ることを包含する、項目 67 に記載の方法。

(74) 上記 (c) における上記外来因子と上記プロファイルとを相関付け

る工程は、上記プロファイルの位相の異同を識別する工程である、項目 6 7 に記載の方法。

5 (7 5) 上記外来因子は、温度変化、湿度変化、電磁波、電位差、可視光線、赤外線、紫外線、X線、化学物質、圧力、重力変化、ガス分圧および浸透圧からなる群から選択される、項目 6 7 に記載の方法。

(7 6) 上記化学物質は、生体分子、化学合成物または培地である、項目 7 5 に記載の方法。

10 (7 7) 上記生体分子は、核酸分子、タンパク質、脂質、糖、プロテオリピッド、リポプロテイン、糖タンパク質およびプロテオグリカンからなる群から選択される、項目 7 6 に記載の方法。

(7 8) 上記生体分子は、ホルモン、サイトカイン、細胞接着因子および細胞外マトリクスからなる群より選択される少なくとも 1 つの生体分子を含む、項目 7 6 に記載の方法。

15 (7 9) 上記化学物質は、レセプターのアゴニストまたはアンタゴニストである、項目 7 5 に記載の方法。

(8 0) 細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を同定するための方法であって、

a) 細胞に、同一環境を保つことができる支持体上で、複数の既知の外来因子を曝露する工程；

20 b) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターし、既知の外来因子の各々に対する上記細胞のプロファイルを得て上記細胞のプロファイルのデータを生成する工程；

c) 上記既知の外来因子の各々と、上記プロファイルの各々とを相関付ける工程；

25 d) 上記細胞を未同定の外来因子に曝露する工程；

e) 外来因子に曝露された上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子また

はその集合体を経時的にモニターして、未同定の外来因子に関する上記細胞のプロファイルを得る工程；

f) 上記工程 (b) で得られたプロファイルの中から、上記工程 (e) で得られたプロファイルに対応するプロファイルを決定する工程；および

- 5 g) 上記未同定の外来因子は、上記工程 (f) において決定されたプロファイルに対応する上記既知の外来因子であることを決定する工程；
を包含する、方法。

(81) 細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を同定するための方法であって、

- 10 a) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体に関し、既知の外来因子と、上記既知の外来因子に対応する上記細胞のプロファイルとの相関関係に関するデータを提供する工程；

b) 上記細胞を未同定の外来因子に曝露する工程；

- c) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的
15 にモニターして、上記細胞のプロファイルを得る工程；

d) 上記工程 (a) において提供された、上記プロファイルの中から、上記工程 (c) において得られたプロファイルに対応するプロファイルを決定する工程；および

- e) 上記未同定の外来因子は、上記決定されたプロファイルに対応する上記
20 既知の外来因子であることを決定する工程；
を包含する、方法。

(82) 同一環境にある細胞の情報に関するプロファイルを得る方法であって、

- a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上に配置する工程；お
25 よび

b) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的

にモニターして上記細胞のプロファイルを得る工程、
を包含する、方法。

(83) 項目1に記載の方法によつて生成されたデータが格納される記録媒体。

5 (84) 上記記録媒体は、上記モニターにおける条件に関する情報、上記プロファイルに関する情報、上記細胞の状態に関する情報および上記生物学的因子に関する情報からなる群より選択される、少なくとも1つの情報に関するデータをさらに含む、項目83に記載の記録媒体。

(85) 上記データは、互いにリンクされた形態で格納される、項目84に記載の記録媒体。

10 (86) 上記データは、上記細胞ごとにリンクされて格納される、項目84に記載の記録媒体。

(87) 項目1に記載された方法によって生成されたデータ。

(88) 項目1に記載された方法によって生成されたデータを含む伝送媒体。

15 (89) 同一環境にある複数の細胞の情報に関するプロファイルデータを生成するシステムであつて、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；

b) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段；および

20 c) 上記モニター手段から得られた信号から上記細胞のプロファイルのデータを生成する手段；
を備える、システム。

(90) 複数の細胞をさらに含み、上記複数の細胞は上記支持体に固定される、項目89に記載のシステム。

25 (91) 上記支持体には、塩およびアクチン作用物質からなる群より選択される少なくとも1つの物質が付着される、項目90に記載のシステム。

(92) 上記モニター手段は、光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、位相顕微鏡、レー

ザー光源を用いた読取装置、表面プラズモン共鳴（SPR）イメージング、電気信号、化学的または生化学的マーカーのいずれかあるいは複数種を用いる手段、放射光、共焦点顕微鏡、非共焦点顕微鏡、微分干涉顕微鏡、実体顕微鏡、ビデオモニターおよび赤外線カメラからなる群より選択される少なくともひとつの手段を含む、項目 89 に記載のシステム。

(93) 同一環境にある細胞の情報に関するプロファイルを提示するシステムであって、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；

b) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段；

c) 上記モニター手段から得られた信号から上記細胞のプロファイルのデータを生成する手段；および

d) 上記データを提示する手段、
を備える、システム。

(94) 複数の細胞をさらに含み、上記複数の細胞は上記支持体に固定される、項目 93 に記載のシステム。

(95) 上記支持体には、塩およびアクチン作用物質からなる群より選択される少なくとも 1 つの物質が付着される、項目 93 に記載のシステム。

(96) 上記モニター手段は、光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、位相顕微鏡、レーザー光源を用いた読取装置、表面プラズモン共鳴（SPR）イメージング、電気信号、化学的または生化学的マーカーのいずれかあるいは複数種を用いる手段、放射光、共焦点顕微鏡、非共焦点顕微鏡、微分干涉顕微鏡、実体顕微鏡、ビデオモニターおよび赤外線カメラからなる群より選択される少なくともひとつの手段を含む、項目 93 に記載のシステム。

(97) 上記データを提示する手段は、ディスプレイである、項目 93 に記載のシステム。

(98) 上記データを提示する手段は、スピーカである、項目93に記載のシステム。

(99) 細胞の状態を判定するシステムであって、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；

5 b) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段；

c) 上記モニター手段から得られた信号からデータを生成する手段；および

d) 上記データから上記細胞の状態を外挿する手段、
を備える、システム。

10 (100) 外来因子と、上記外来因子に対する細胞の応答とを相関付けるシステムであって、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；

b) 外来因子を曝露する手段；

15 c) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段；

d) 上記モニター手段からの信号から、上記細胞のプロファイルのデータを生成する工程；および

e) 上記外来因子と、上記プロファイルとを相関付ける手段；
を備える、システム。

20 (101) 細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を同定するためのシステムであって、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；

b) 既知の外来因子を曝露する手段；

25 c) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段；

d) 外来因子の各々に対する上記細胞のプロファイルを得て上記細胞のプロ

ファイルのデータを生成する手段；

e) 上記既知の外来因子の各々と、上記プロファイルの各々とを相関付ける手段；

f) 上記細胞を未同定の外来因子に曝露する手段；

5 g) 上記手段（d）で得られた既知の外来因子のプロファイルと、未知の外来因子のプロファイルとを比較し、既知の外来因子のプロファイルの中から、未知の外来因子のプロファイルに対応するプロファイルを決断する手段であつて、上記決断された未同定の外来因子は、上記決断されたプロファイルに対応する上記既知の外来因子である、手段、

10 を備える、システム。

（102） 細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を同定するためのシステムであつて、

a) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体に関し、既知の外来因子と、上記既知の外来因子に対応する上記細胞のプロファイルと

15 の相関関係に関するデータが格納された記録媒体；

b) 上記細胞を未同定の外来因子に曝露する手段；

c) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；

d) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段；

20 e) 上記モニター手段から得られた信号から、上記細胞のプロファイルを得る手段；

f) 上記記録媒体（a）において格納される上記プロファイルの中から、未知の外来因子に関して得られたプロファイルに対応するプロファイルを決断する手段であつて、上記未同定の外来因子は、上記決断されたプロファイルに対

25 応する上記既知の外来因子である、手段；

を備える、システム。

(103) 複数の細胞を固定し得、かつ、上記細胞の環境を同一に維持し得る支持体。

(104) 上記支持体上の細胞は、アレイ状に配置され得る、項目103に記載の支持体。

5 (105) 塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体、またはアクチン作用物質を含む、項目103に記載の支持体。

(106) 塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体、ならびにアクチン作用物質を含む、項目103に記載の支持体。

10 (107) 上記細胞は、最大1mm以下の間隔で配置され得る、項目103に記載の支持体。

(108) 固定された細胞をさらに含む、項目103に記載の支持体。

(109) 固定された生物学的因子をさらに含む、項目104に記載の支持体。

15 (110) 上記生物学的因子は2種類以上固定される、項目109に記載の支持体。

(111) 細胞および生物学的因子が固定される、項目103に記載の支持体。

20 (112) 塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体と、アクチン作用物質とが、細胞および生物学的因子とともに固定される、項目103に記載の支持体。

(113) 塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体と、アクチン作用物質とが、細胞および生物学的因子とともにアレイ状に固定される、項目103に記載の支持体。

25 (114) 塩と、遺伝子導入試薬と、アクチン作用物質と、核酸分子と、細胞とがアレイ状に固定される、項目104に記載の支持体。

(115) 上記塩は、塩化カルシウム、リン酸水素ナトリウム、炭酸水素ナ

トリウム、ピルビン酸ナトリウム、H E P E S、塩化カルシウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、硫化マグネシウム、硝酸鉄、アミノ酸およびビタミンからなる群より選択される塩を含む、項目 1 1 4 に記載の支持体。

5 (1 1 6) 上記遺伝子導入試薬は、カチオン性高分子、カチオン性脂質、ポリアミン系試薬、ポリイミン系試薬、リン酸カルシウム、オリゴフェクタミンおよびオリゴフェクターからなる群より選択される少なくともひとつの試薬を含む、項目 1 1 4 に記載の支持体。

10 (1 1 7) 上記アクチン作用物質は、フィブロネクチン、ラミニンおよびビトロネクチンからなる群より選択される少なくとも 1 つのタンパク質またはその改変体もしくはフラグメントを含む、項目 1 1 4 に記載の支持体。

(1 1 8) 上記核酸分子は、サイトカイン、ホルモン、細胞接着因子、細胞骨格タンパク質および酵素からなる群より選択されるタンパク質をコードする配列を含む、項目 1 1 4 に記載の支持体。

15 (1 1 9) 上記細胞は、動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、細菌細胞および真菌細胞からなる群より選択される細胞を含む、項目 1 1 4 に記載の支持体。

(1 2 0) 上記支持体の材料は、ガラス、シリカ、およびプラスチックからなる群より選択される材料を含む、項目 1 1 4 に記載の支持体。

(1 2 1) 固定された複数の細胞を含み、かつ、上記細胞の環境を同一に維持し得る支持体を生産する方法であって、

20 A) 支持体を提供する工程；および

B) 細胞を塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体を用いて上記支持体上に固定する工程、を含む、方法。

25 (1 2 2) 上記固定工程は、上記塩と、上記正に荷電した物質としての遺伝子導入試薬と、アクチン作用物質と、上記負に荷電した物質としての核酸分子と、上記細胞との混合物を、アレイ状に固定することを含む、項目 1 2 1 に記

載の方法。

(1 2 3) 上記固定工程は、プリント工程を含む、項目 1 2 1 に記載の方法。

(1 2 4) 上記支持体の提供は、支持体材料から上記支持体を作製する工程、を包含する、項目 1 2 1 に記載の方法、。

5 (1 2 5) 固定された複数の細胞を含み、かつ、上記細胞の環境を同一に維持し得る支持体を生産する装置であって、

A) 支持体を提供する手段；および

B) 細胞を塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体を用いて上記支持体上に固定する手段

10 を備える、装置。

(1 2 6) 上記固定手段は、プリント手段を含む、項目 1 2 5 に記載の装置。

(1 2 7) 上記支持体提供手段は、支持体材料から上記支持体を成型する手段を含む、項目 1 2 5 に記載の装置。

15 本発明の他の実施形態、好ましい形態は、添付の図面を参酌しながら、本明細書の好ましい実施形態を理解することによって達成され得ることが認識され得る。

(1 2 8) デジタル細胞を生産する方法であって、

a) 実験対象の細胞を特定する細胞パラメータを取得する工程；

20 b) 上記細胞パラメータによって特定された上記細胞を培養する環境を特定する環境パラメータを取得する工程；

c) 上記細胞パラメータによって特定された上記細胞に与える刺激を特定する刺激パラメータを取得する工程；

25 d) 上記環境パラメータによって特定された上記環境下で上記細胞パラメータによって特定された上記細胞が上記刺激パラメータによって特定された上記刺激に対して応答した結果を示す刺激応答結果を取得する工程；

e) 上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータと上記

刺激応答結果とを関連づけることにより、上記細胞に対する 1 つの実験データを生成する工程；および

- f) 工程 a) ~ 工程 e) を必要に応じて繰り返すことにより、上記細胞に対する少なくとも 1 つの実験データの集合を生成し、上記少なくとも 1 つの実験データの集合をデジタル細胞として提供する工程；

を包含する、方法。

(129) 上記環境パラメータは、上記細胞を培養する培地を示すパラメータと、上記培地の条件を示すパラメータとを含む、項目 128 に記載の方法。

- (130) 上記刺激パラメータは、レポーターを示すパラメータと、化学刺激を示すパラメータとを含む、項目 128 に記載の方法。

(131) 上記刺激応答結果は、上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターすることによって得られる上記細胞のプロファイルのデータを含む、項目 128 に記載の方法。

- (132) 上記方法は、上記デジタル細胞をデータベースに格納する工程をさらに包含する、項目 128 に記載の方法。

(133) デジタル細胞を生産する装置であって、

- a) 実験対象の細胞を特定する細胞パラメータを取得する手段；
b) 上記細胞パラメータによって特定された上記細胞を培養する環境を特定する環境パラメータを取得する手段；
c) 上記細胞パラメータによって特定された上記細胞に与える刺激を特定する刺激パラメータを取得する手段；

d) 上記環境パラメータによって特定された上記環境下で上記細胞パラメータによって特定された上記細胞が上記刺激パラメータによって特定された上記刺激に対して応答した結果を示す刺激応答結果を取得する手段；

- e) 上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータと上記刺激応答結果とを関連づけることにより、上記細胞に対する 1 つの実験データを

を生成する手段；および

f) 工程 a) ～工程 e) を必要に応じて繰り返すことにより、上記細胞に対する少なくとも 1 つの実験データの集合を生成し、上記少なくとも 1 つの実験データの集合をデジタル細胞として提供する手段；

5 を備えた、装置。

(134) サービスリクエスタとサービスプロバイダとを含むコンピュータシステムを用いて、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供する方法であって、

10 少なくとも 1 つのデジタル細胞を格納したデータベースを用意する工程であって、上記少なくとも 1 つのデジタル細胞のそれぞれは、実験対象の細胞に対する少なくとも 1 つの実験データの集合によって表現されており、上記少なくとも 1 つの実験データのそれぞれは、上記細胞を特定する細胞パラメータと、上記細胞パラメータによって特定された上記細胞を培養する環境を特定する環境パラメータと、上記細胞パラメータによって特定された上記細胞に与える刺激を特定する刺激パラメータと、上記環境パラメータによって特定された上記環境下で上記細胞パラメータによって特定された上記細胞が上記刺激パラメータによって特定された上記刺激に対して応答した結果を示す刺激応答結果とを含む、工程；

20 上記サービスリクエスタが、上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとを受け取り、上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとを含むリクエストを生成する工程；

上記サービスリクエスタが、上記リクエストを上記サービスプロバイダに提供する工程；

25 上記サービスプロバイダが、上記リクエストに応答して上記データベースを検索し、上記データベース内に上記リクエストに含まれる上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとに関連する上記刺激応答結果が

存在するか否かを決定する工程；

上記データベース内に上記リクエストに含まれる上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとに関連する上記刺激応答結果が存在すると決定された場合には、上記サービスプロバイダが、上記刺激応答結果を上

5 記サービスリクエストに提供する工程；および

上記サービスリクエストが、上記刺激応答結果を表示する工程；

を包含する、方法。

(135) サービスリクエストと複数のサービスプロバイダとを含むコンピュータシステムを用いて、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供する方法であって、

10 少なくとも1つのデジタル細胞をそれぞれ格納した複数のデータベースを用意する工程であって、上記少なくとも1つのデジタル細胞のそれぞれは、実験対象の細胞に対する少なくとも1つの実験データの集合によって表現されており、上記少なくとも1つの実験データのそれぞれは、上記細胞を特定する細胞

15 パラメータと、上記細胞パラメータによって特定された上記細胞を培養する環境を特定する環境パラメータと、上記細胞パラメータによって特定された上記細胞に与える刺激を特定する刺激パラメータと、上記環境パラメータによって特定された上記環境下で上記細胞パラメータによって特定された上記細胞が上記刺激パラメータによって特定された上記刺激に対して応答した結果を示す刺

20 激応答結果とを含む、工程；

上記複数のサービスプロバイダが提供可能な少なくとも1つのサービスを登録したサービスレジストリを用意する工程；

上記サービスリクエストが、上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとを受け取り、上記細胞パラメータと上記環境パラメータと

25 上記刺激パラメータとを含むリクエストを生成する工程；

上記サービスリクエストが、上記リクエストに応答して上記サービスレジス

トリを検索し、上記複数のサービスプロバイダの中に上記リクエストのサービスを提供可能なサービスプロバイダが存在するか否かを決定する工程；

上記複数のサービスプロバイダの中に上記リクエストのサービスを提供可能なサービスプロバイダが存在すると決定された場合には、上記サービスリクエ

5 スタが、上記リクエストを上記サービスプロバイダに提供する工程；

上記サービスプロバイダが、上記リクエストに応答して上記データベースを検索し、上記データベース内に上記リクエストに含まれる上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとに関連する上記刺激応答結果が存在するか否かを決定する工程；

10 上記データベース内に上記リクエストに含まれる上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとに関連する上記刺激応答結果が存在すると決定された場合には、上記サービスプロバイダが、上記刺激応答結果を上記サービスリクエストに提供する工程；および

上記サービスリクエストが、上記刺激応答結果を表示する工程；

15 を包含する、方法。

(136) デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供するコンピュータシステムであって、

少なくとも1つのデジタル細胞を格納したデータベースにアクセス可能なように構成されたサービスプロバイダであって、上記少なくとも1つのデジタル

20 細胞のそれぞれは、実験対象の細胞に対する少なくとも1つの実験データの集合によって表現されており、上記少なくとも1つの実験データのそれぞれは、

上記細胞を特定する細胞パラメータと、上記細胞パラメータによって特定された上記細胞を培養する環境を特定する環境パラメータと、上記細胞パラメータ

によって特定された上記細胞に与える刺激を特定する刺激パラメータと、上記

25 環境パラメータによって特定された上記環境下で上記細胞パラメータによって特定された上記細胞が上記刺激パラメータによって特定された上記刺激に対し

て応答した結果を示す刺激応答結果とを含む、サービスプロバイダ；および
ユーザが所望するサービスをリクエストするサービスリクエスト；
を備え、
上記サービスリクエストは、

- 5 上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとを受け取り、上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとを含むリクエストを生成する手段；および
上記リクエストを上記サービスプロバイダに提供する手段；
を含み、

- 10 上記サービスプロバイダは、
上記リクエストに응答して上記データベースを検索し、上記データベース内に上記リクエストに含まれる上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとに関連する上記刺激応答結果が存在するか否かを決定する手段；および

- 15 上記データベース内に上記リクエストに含まれる上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとに関連する上記刺激応答結果が存在すると決定された場合には、上記刺激応答結果を上記サービスリクエストに提供する手段；
を含み、

- 20 上記サービスリクエストは、
上記刺激応答結果を表示する手段；
をさらに含む、コンピュータシステム。

- (137) 上記サービスリクエストは、上記ユーザが操作するWebブラウザであり、上記サービスプロバイダは、インターネットを介して上記サービスリクエストに接続されるWebサーバーである、項目136に記載のコンピュータシステム。
- 25

(138) 上記サービスリクエストは、XMLで記述した形式で上記リクエストを上記サービスプロバイダに提供する、項目136に記載のコンピュータシステム。

5 (139) 上記サービスプロバイダは、XMLで記述した形式で上記刺激応答結果を上記サービスリクエストに提供する、項目136に記載のコンピュータシステム。

(140) デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供するコンピュータシステムであって、

10 複数のサービスプロバイダであって、上記複数のサービスプロバイダのそれぞれは、少なくとも1つのデジタル細胞を格納したデータベースにアクセス可能なように構成されており、上記少なくとも1つのデジタル細胞のそれぞれは、実験対象の細胞に対する少なくとも1つの実験データの集合によって表現されており、上記少なくとも1つの実験データのそれぞれは、上記細胞を特定する細胞パラメータと、上記細胞パラメータによって特定された上記細胞を培養する環境を特定する環境パラメータと、上記細胞パラメータによって特定された上記細胞に与える刺激を特定する刺激パラメータと、上記環境パラメータによって特定された上記環境下で上記細胞パラメータによって特定された上記細胞が上記刺激パラメータによって特定された上記刺激に対して応答した結果を示す刺激応答結果とを含む、複数のサービスプロバイダ；

20 上記複数のサービスプロバイダが提供可能な少なくとも1つのサービスを登録したサービスレジストリ；および

ユーザが所望するサービスをリクエストするサービスリクエスト；
を備え、

上記サービスリクエストは、

25 上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとを受け取り、上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとを含む

リクエストを生成する手段；

上記リクエストに応答して上記サービスレジストリを検索し、上記複数のサービスプロバイダの中に上記リクエストのサービスを提供可能なサービスプロバイダが存在するか否かを決定する手段；および

- 5 上記複数のサービスプロバイダの中に上記リクエストのサービスを提供可能なサービスプロバイダが存在すると決定された場合には、上記リクエストを上記サービスプロバイダに提供する手段；

を含み、

上記複数のサービスプロバイダのそれぞれは、

- 10 上記リクエストに応答して上記データベースを検索し、上記データベース内に上記リクエストに含まれる上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとに関連する上記刺激応答結果が存在するか否かを決定する手段；および

- 15 上記データベース内に上記リクエストに含まれる上記細胞パラメータと上記環境パラメータと上記刺激パラメータとに関連する上記刺激応答結果が存在すると決定された場合には、上記刺激応答結果を上記サービスリクエストに提供する手段；

を含み、

上記サービスリクエストは、

- 20 上記刺激応答結果を表示する手段；

をさらに含む、コンピュータシステム。

(1 4 1) 上記サービスリクエストは、インターネットを介して上記ユーザが操作するWebブラウザに接続されるWebサーバーであり、上記複数のサービスプロバイダのそれぞれは、上記インターネットを介して上記サービスリクエストに接続されるWebサーバーである、項目1 4 0に記載のコンピュータシステム。

25

(1 4 2) 上記サービスリクエストは、XMLで記述した形式で上記リクエストを上記サービスプロバイダに提供する、項目140に記載のコンピュータシステム。

5 (1 4 3) 上記サービスプロバイダは、XMLで記述した形式で上記刺激応答結果を上記サービスリクエストに提供する、項目140に記載のコンピュータシステム。

(1 4 4) 細胞の情報に関するプロフィールデータを生成する方法であって、
a) 細胞を支持体上に固定して配置する工程；および
b) 上記細胞上または上記細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的
10 にモニターして上記細胞のプロファイルのデータを生成する工程；
を包含する、方法。

(1 4 5) 上記生物学的因子は、核酸分子または上記核酸分子に由来する分子である、項目144に記載の方法。

15 (1 4 6) 上記細胞は、a) 正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体；および b) 塩、を含む、組成物によって、上記支持体に固定される、項目144に記載の方法。

(1 4 7) 上記細胞には、アクチン作用物質が提供される、項目144に記載の方法。

20 (1 4 8) 上記細胞は、a) 正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体；および b) 塩、を含む、組成物によって、上記支持体に固定され、かつ、アクチン作用物質が提供される、項目144に記載の方法。

(1 4 9) 上記生物学的因子は、核酸分子、タンパク質、糖鎖、脂質、低分子、それらの複合分子からなる群より選択される、項目144に記載の方法。

25 (1 5 0) 上記細胞は、モニター前に少なくとも約3日間培養される、項目144に記載の方法。

(1 5 1) 上記生物学的因子は、遺伝子をコードする核酸分子を含む、項目

1 4 4に記載の方法。

(1 5 2) 上記プロファイルは、遺伝子発現のプロファイルを含む、項目 1 4 4に記載の方法。

5 (1 5 3) 上記プロファイルは、アポトーシスシグナルのプロファイルを含む、項目 1 4 4に記載の方法。

(1 5 4) 上記プロファイルは、ストレスシグナルのプロファイルである、項目 1 4 4に記載の方法。

(1 5 5) 上記プロファイルは、分子の局在化に関するプロファイルである、項目 1 4 4に記載の方法。

10 (1 5 6) 上記分子は、蛍光、燐光、放射性物質またはその組み合わせにて標識される、項目 1 3 9に記載の方法。

(1 5 7) 上記プロファイルは、細胞形態の変化を含む、項目 1 4 4に記載の方法。

15 (1 5 8) 上記プロファイルは、プロモーターのプロファイルを含む、項目 1 4 4に記載の方法。

(1 5 9) 上記プロファイルは、特定薬剤依存性のプロモーターのプロファイルを含む、項目 1 4 4に記載の方法。

20 (1 6 0) 上記プロファイルは、特定薬剤依存性のプロモーターのプロファイルを含み、上記特定薬剤を投与するさらに工程を含む、項目 1 4 4に記載の方法。

(1 6 1) 外来因子が上記細胞に提供される工程をさらに包含する、項目 1 4 4に記載の方法。

(1 6 2) 上記外来因子は、RNA iを含む、項目 1 6 1に記載の方法。

25 (1 6 3) 上記外来因子は、生体に存在しない化学物質を含む、項目 1 6 1に記載の方法。

(1 6 4) 上記プロファイルは、分子間相互作用のプロファイルを含む、項

目 1 4 4 に記載の方法。

(1 6 5) 上記外来因子は、上記細胞のレセプターに対するリガンドを含む、項目 1 6 1 に記載の方法。

5 (1 6 6) 上記プロファイルは、レセプターリガンド相互作用のプロファイルを含む、項目 1 4 4 に記載の方法。

(1 6 7) 上記プロファイルは細胞形態であり、上記方法は、遺伝子の過剰発現、過小発現もしくはノックダウン、外来因子の添加および環境の変化からなる群より選択される、刺激を上記細胞に与える工程をさらに包含する、項目 1 4 4 に記載の方法。

10 (1 6 8) 上記プロファイルは、上記細胞内に存在する分子間の相互作用のプロファイルを含む、項目 1 4 4 に記載の方法。

(1 6 9) 上記方法は、ツーハイブリッド法、FRETおよびBRETからなる群より選択される技術を用いた観察を行う工程をさらに包含する、項目 1 4 4 に記載の方法。

15 (1 7 0) 上記プロファイルは、上記細胞内に存在する分子間の相互作用のプロファイルを含み、上記方法は、ツーハイブリッド法、FRETおよびBRETからなる群より選択される技術を用いた観察を行う工程をさらに包含する、項目 1 4 4 に記載の方法。

20 (1 7 1) 上記細胞は、上記支持体上にアレイ状に配置される、項目 1 4 4 に記載の方法。

(1 7 2) 上記細胞は、上記支持体上にアレイ状に配置され、上記複数の細胞は、各々が最大 1 mm の間隔をあけて配置される、項目 1 4 4 に記載の方法。

(1 7 3) 上記プロファイルはリアルタイムに得られる、項目 1 4 4 に記載の方法。

25 (1 7 4) 上記細胞を固相支持体に固定する工程をさらに包含する、項目 1 4 4 に記載の方法。

(175) 上記データは、上記プロファイルに関する情報を含む、項目144に記載の方法。

(176) 上記データは、上記モニターにおける条件に関する情報を含む、項目144に記載の方法。

5 (177) 上記データは、上記細胞の状態に関する情報を含む、項目144に記載の方法。

(178) 上記モニターされる生物学的因子は、少なくとも2種の生物学的因子を含む、項目144に記載の方法。

10 (179) 上記モニターされる生物学的因子は、少なくとも3種の生物学的因子を含む、項目144に記載の方法。

(180) 上記モニターされる生物学的因子は、少なくとも8種の生物学的因子を含む、項目144に記載の方法。

(181) 生物学的因子を任意に選択する工程をさらに包含する、項目144に記載の方法。

15 (182) 上記細胞は、幹細胞および体細胞からなる群より選択される、項目144に記載の方法。

(183) 上記支持体は、固相支持体を含む、項目144に記載の方法。

(184) 上記支持体は、基板を含む、項目144に記載の方法。

20 (185) 上記生物学的因子は核酸分子であり、上記細胞は、上記核酸分子でトランスフェクトされる、項目144に記載の方法。

(186) 上記トランスフェクトは固相上または液相中で行われる、項目185に記載の方法。

(187) 上記トランスフェクトは固相上で行われる、項目185に記載の方法。

25 (188) 上記プロファイルの位相を比較する工程を包含する、項目144に記載の方法。

(189) 上記細胞のプロファイルとコントロールプロファイルとの差分をとる工程を包含する、項目144に記載の方法。

(190) 上記プロファイルは、信号処理法および多変量解析からなる群より選択される数学処理により処理される工程をさらに包含する、項目144に記載の方法。

以下に、本発明の好ましい実施形態を示すが、当業者は本発明の説明および当該分野における周知慣用技術からその実施形態などを適宜実施することができ、本発明が奏する作用および効果を容易に理解することが認識されるべきである。

- 10 本発明によって、細胞の状態に関する連続情報（プロファイル）・データが得られる。同一の環境条件における細胞の状態に関する情報・データ（特に連続情報・連続プロファイル）が再現性よく得られる。本発明によって、そのようなデータを正確に提示するための方法およびシステムが提供される。特に、同一環境条件で細胞レベルでの情報を、複雑系という観点でそのままあるいは直接的に提示するシステムおよび方法ならびにそのようなデータおよびデータ配列技術そのものが提供されたことは驚くべき効果である。本発明はさらに、従来不可能であった、実際の生のデータの基づくデジタル細胞およびその利用法を提供するという効果を奏する。
- 15

- このように、本発明により、驚くべきほど少ない因子を観察することによって、細胞の状態を判定し、試験し、研究することが可能になった。このような判定により、診断、予防、治療に応用することが可能となり、その応用範囲は医療のみならず、食品、化粧品、農業、環境など種々の分野に及ぶ。また、コンピュータ上で生実験を再現できることから、バイオテクノロジーにおける教育および研究を行うことができるようになったという効果も奏する。
- 20

25

図面の簡単な説明

図1は、HEK293細胞を用いた場合の種々のアクチン作用物質およびコントロールとしてのゼラチンを用いた結果の一例を示す。トランスフェクション効率に対する、付着した分子の効果を示す。HEK293細胞に対してE f f e c t t e n e 試薬を用いて、pEGFP-N1をトランスフェクションした。

図2は、フィブロネクチンのフラグメントを用いた場合のトランスフェクション効率の結果の一例を示す。

図3は、フィブロネクチンのフラグメントを用いた場合のトランスフェクション効率の結果の一例を示す。

図4は、図2および図3からまとめたフィブロネクチンのフラグメントを用いた場合のトランスフェクション効率の結果の一例を示す。

図5は、種々の細胞におけるトランスフェクション効率を調べた結果の一例を示す。

図6は、種々のプレートを用いた場合のトランスフェクションの状態を示す結果の一例を示す。

図7は、フィブロネクチンの濃度を0、0.27、0.53、0.8、1.07および1.33（それぞれ $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ）として種々のプレート上でトランスフェクションを行った場合の結果を示す。

図8は、フィブロネクチンの有無での、細胞接着プロファイルを示す写真の一例を示す。

図9は、フィブロネクチンの有無での、細胞接着プロファイルを示す切片写真の一例を示す。共焦点レーザー走査顕微鏡によるヒト間葉系幹細胞（hMSC）の切片観察である。hMSCを、4%のPFAを用い、数回インキュベートして固定した。青色蛍光（核：SYTO61）および赤色蛍光（核：テキサスレッド-Xファロイジン）を、共焦点レーザー走査顕微鏡（LSM510,

Carl Zeiss Co., Ltd, ピンホールサイズ=1.0; 画像間隔=0.4) を用いて得た。

図10は、核の表面積の推移を示す。共焦点レーザー走査顕微鏡画像の切片観察によって決定された相対的な核の表面積。ヒト間葉系幹細胞を、4%のPFAを用いて、数回インキュベートして固定した。

図11は、トランスフェクションアレイチップとして構築した場合のトランスフェクション実験の結果の一例を示す。

図12は、アレイ上での各スポット間の夾雑の様子を示す一例である。

図13は、実施例4における本発明の固相トランスフェクションによって、空間的に分離したDNAの細胞内への取り込みを示す図である。

図13Aは、固相系トランスフェクションアレイ (SPTA) 作製方法を模式的に示した図である。この図は、固相トランスフェクションの方法論を示す。

図13Bは、固相トランスフェクションの結果を示す。HEK293細胞株を用いてSPTAを作製した結果を示す。緑色の部分は、トランスフェクションされた付着細胞を示す。この結果から、本発明の方法によって、空間的に分離された、異なる遺伝子によってトランスフェクトされた細胞の集団を調製することが可能となった。このように図13ABは全体としてトランスフェクション (SPTA) のスキームを示す。図13AはSPTA判定のアウトラインを示し、図13BはHEK293細胞株でのSPTAの結果を示す。バーは3mmである。

図13Cは、固相系でのトランスフェクションの方法論を示す。

図14Aおよび図14Bは、液相トランスフェクションとSPTAの比較を示す結果である。

図14Aは、実験に用いた5つの細胞株について、GFP強度/mm²を測定した結果を示す。図14Aは、トランスフェクション効率を、単位面積あたりの総蛍光強度として決定する方法を示す。

図14Bは、図14Aの示すデータに対応する、EGFPを発現する細胞の蛍光画像である。図14Bにおいて、白丸で示された領域は、プラスミドDNAを固定化した領域を示す。プラスミドDNAを固定化した領域以外の領域では、細胞が固相に固定化されたにもかかわらず、EGFPを発現する細胞は観察されなかった。白棒は、500 μ mを示す。

測定された蛍光/ mm^2 5種の細胞株についての図14Aに対応する。EGFP発現細胞の蛍光写真である。白色の円状のものは、プラスミドDNAプリント領域にあたる。この領域の外の領域の細胞はEGFPを発現しているが、プリント領域の以外の領域にも細胞は付着している。

10 図14Cは、本発明のトランスフェクション法の一例を示す。

図14Dは、本発明のトランスフェクション法の一例を示す。

図15は、チップのコーティングによって相互夾雑が低減された結果を示す。

図15は、HEK293細胞、HeLa細胞、NIT3T3細胞（「3T3」として示す）、HepG2細胞、およびhMSCを用いて、液相トランスフェクション法およびSPTAを行った結果を示す。トランスフェクション効率を、GFP強度で示す。

使用するN/P比率によるhMSCのトランスフェクション効率が図15Aに示される。従来の液相トランスフェクションの場合には（図15B上）、hMSC細胞は死滅し、SPTAの場合は細胞系対は正常である（図15B下）。

20 図16は、各スポット間の相互夾雑に関する様子を示す図である。APSまたはPLL（ポリ-L-リジン）でコーティングしたチップに対して、所定の濃度のフィブロネクチンを含む核酸混合物を固定化し、その固定化したチップを用いて細胞トランスフェクションした結果、相互夾雑は観察されなかった（上段および中絶）。これに対して、チップをコーティングしなかった場合、固定化
25 核酸の有意な相互夾雑が観察された（下段）。

pEGFP-N1およびpDsRed2-N1を市松模様にプリントし、そ

してhMSC（パネルA）またはHEK293（パネルB）を培養した。

図16Cは、核酸の固定化において使用する混合物中に使用される物質の種類と、細胞接着速度との相関関係を示す。このグラフは、時間経過に伴う、接着細胞の割合の増加を示す。グラフの傾きが緩やかな場合は、グラフの傾き急な場合と比較して、より多くの時間が細胞接着に必要なことを示す。

図16Dは、図16C中のグラフを拡大して示したものである。

図17は、本発明の方法をコンピュータにおいて実行したときの一構成例を示す。

図18Aは、本発明の数理的解析法の一例を示す。図18A（pNEFAT-d2EGFP／ネガティブコントロールの平均）および図18B（pERE-d2EGFP／ネガティブコントロールの平均）のようなプロモーターのプロファイルを蛍光強度の経時変化を測定することによって取得する。なお、このプロファイルは、細胞または培地の自己蛍光を用いて正規化してある。この後に、レポーター発現変動の振幅を比較するために、振幅幅=5以上（ $TH \geq 5$ ）の発現変動を状態が変化したと判断した。また、分化誘導開始初期（0-17.5時間）および後期（17.5-31.5時間）ならびにトータル（0-31.5時間）の区間に区切って、振幅幅=5以上（ $TH \geq 5$ ）の発現変動を観察したものを（+）、それ以下の変動であったものを（-）と定義した。この定義から、AおよびBのプロファイルは、図18Aおよび図18Bの下

表
のように評価された。この表中では、任意のレポーターの抽出時（A+B+...+n）では、n個の波形を積算し、これをnで割った平均の波形を作成し、閾値以上の変動を変化とみなした。

図18Bは、本発明の数理的解析法の別の一例を示す。任意のレポーターの抽出時（A+B+...+n）では、n個の波型を積算し、これをnで割った平均の波型を作成し、閾値以上の変動を変化とみなした。図18B左は、2つ

のレポータープロファイルを積算し、その平均波形を赤線（黒四角）で描いたものである。平均プロファイルの変動が5以上になったものを、発現変動とみなして評価した。すると、以下の表のように、抽出された2レポーターの変動を評価することができる。

- 5 図19は、本発明で用いたプロモーター含有プラスミド例および本発明の解析の一例を示す。間葉系幹細胞の骨芽細胞分化および未分化維持条件において図19左に示した17種類の転写因子をレポーターとし、これらの発現プロファイルを経時的に取得した（図19右）。この17種類のプロファイルから、任意の数のプロファイルを抽出し、前述（図18）の方法によって、各転写因子
- 10 の応答プロファイルの変動幅を基準としてとして評価した。

- 図20は、分化誘導初期における数理的解析結果の一例を示す。分化誘導初期において任意に抽出される組み合わせを変化させたとき、図20のような結果を得た。抽出数は、17のレポーター群から任意のその数のレポーターを抽出し、図18に示した方法によって平均プロファイルを算出後、変動幅 ≥ 5 の変動を示したものを、誘導開始から0-31.5、0-17.5、17.5-31.5時間の区間で評価した結果である。書く抽出条件において、その抽出数は、17通りである。ただし抽出数17は1通りである。この組み合わせのうち、いくつかの組み合わせで、変動があると判断された割合を図20中の表に示し、図20のグラフに示した。この解析により、分化のごく初期に関しては、分化誘導を把握できないが、約15時間後以降においては、確認できる。
- 15
- 20 なお、変化が認められる割合が100%となった任意の抽出数は、この場合において8以上であった。

- 図21は、未分化維持における数理的解析結果の一例を示す。図20と同様に、未分化維持条件において任意の抽出される組み合わせを変化させたときに
- 25 グラフに表されるような結果を得た。図20に前述の分化誘導時の結果と比べると、大きく異なる。この比較によって、細胞が分化誘導に向かっているのか

未分化を維持しているのかを判断することができると考えられる。

図 2 2 は、カクテルパーティープロセスの模式図を示す。

図 2 3 は、遺伝子転写スイッチレポーター（本発明において使用されるトランスフェクションプラスミド）の構築例を示す。

5 図 2 4 は、転写因子レポーターセットの構築例を示す。

図 2 5 は、転写因子レポーターのアッセイ例を示す。

図 2 6 は、骨分化過程における転写因子活性の時系列測定例を示す。

図 2 7 は、転写因子活性の振動現象および位相解析の例を示す。

図 2 8 は、s i RNA 実験のプロトコルを示す。

10 図 2 9 A は、s i RNA 実験の結果を示す。上は h M S C での結果を示し、下は H e L a 細胞での結果を示す。数字は、s i RNA の濃度 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) を示す。抗 G F P s i RNA での結果を左に示し、右にはスクランブル s i RNA での結果を示す。

図 2 9 B は、固相トランスフェクション (P C 1 2) をコラーゲン I V コーティング上で行った場合の s i RNA の効果を示す。図 2 9 B (A) は、E G F P ベクターおよび抗 E G F P s i RNA を共トランスフェクションした P C 1 2 細胞を示す。示されるように、H c R e d のみが発色し、p E G F P - N 1 に由来する緑色信号が抑制されていたことが判明した。他方、図 2 9 B (B) は、スクランブル s i RNA を用いた例を示す。示されるように、緑色の蛍光が観察され、図 2 9 B (A) における効果は、R N A i の効果であることが確認された。図 2 9 B (A) および図 2 9 B (B) における蛍光の強度を相対的に示した図を図 2 9 B (C) に示す。y 軸は相対輝度により示す。E G F P による効果は、ほぼ完全に抑えられていることが分かる。

15
20

図 2 9 C には、これらをまとめた結果およびグラフを示す。左のパネルは、
25 R N A i と p D N A との比率を変動させた場合の、E G F P の R N A i とスクランブル (M o c k) R N A i とを比較した写真である。示されるように、E

GFPのRNAiでは阻害効果が示されているのに対してスクランブルでは、変化がなかった。こ r を、DsRed2とともに示したものを右パネルに示す。実験条件は、上述のものに準じた。その結果、赤 (DsRed由来のシグナル) および緑 (EGFP由来のシグナル) は、RNAi の効果に比例して示された。

- 5 図29Dには、RNAi レポーターを用いたチップの模式図を示す。インプットシグナルとしてRNAiを使用した場合、そのアウトプットとしてEGFなどのシグナル発信が可能な遺伝子産物と目的となる遺伝子 (プロモーターを含む) をコードする核酸を共に導入した場合、アウトプットとしてそのシグナル発信を観察することによって、細胞情報を取り出すことが可能である。
- 10 図29Eには、種々のレポーター (pAP1-EGFP, pAP1(PMA)-EGFP, pCRE-EGFP, pE2F-EGFP, pERE-EGFP, pGAS-EGFP, pGRE-EGFP, pHSE-EGFP, pISRE-EGFP, pMyc-EGFP, pNFAT-EGFP, pNFkB-EGFP, pRARE-EGFP, pRb-EGFP, pSTST3-EGFP, pSRE-EGFP, pTRE-EGFP, pp53-EGFP, pCREB-sensor, pIkb-sensor, pp53-sensor, pCasapase3-sensor; シスエレメント配列は、クロンテックより購入。蛍光
- 15 蛋白質遺伝子を組み換えて作成したプラスミドベクター) を用いた実験例を示す。

図30は、テトラサイクリン依存性プロモーターを使用したときの変化の様子を示す。

- 20 図31は、テトラサイクリン依存性プロモーターおよびテトラサイクリン非依存性プロモーターを用いたときの、発現の様子を示す図である。

図31Bは、ニューロンをチロシンキナーゼのRNAiの影響をトランスフェクションマイクロアレイを用いて分析した模式図を示す。

- 図31Cには、種々のチロシンキナーゼによるレチノイン酸 (RA) および
- 25 神経成長因子 (NGF) の応答を示す。siRNAでの阻害%を示した。

図31Dは、解析の結果得られたシグナル伝達経路の模式図を示す。

図 3 1 E は、上記の解析により得られた結果を示す。ヒトニューロン分化を担うチロシンキナーゼの総合分析である。ドパミン作動性ニューロンであるか、コリン作動性ニューロンであるか、その両方であるか、その両方でないかで分類してある。両方に関与するものが神経突起形成に関与する可能性が高いと分析できる。

図 3 1 F は、H e L a 細胞でのアポトーシスの転写調節のリアルタイムモニタリングを示す一例である。左のパネルは、経時的解析結果および右はその解析に基づいて得られたシグナル伝達経路解析結果である。

図 3 2 は、システム構成例を示す。

10 図 3 3 A は、本発明のデジタル細胞の一例である。

図 3 3 B は、本発明のデジタル細胞の別の例である。

図 3 4 は、本発明のデジタル細胞の生産方法の一例を示す。

図 3 5 は、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供するコンピュータシステム 3 5 0 1 の構成の一例を示す。

15 図 3 6 は、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供する処理の手順の一例を示す。

図 3 7 は、サービスリクエスト 3 5 1 0 に細胞パラメータと環境パラメータと刺激パラメータとを入力する入力画面の一例を示す。

20 図 3 8 は、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供するコンピュータシステム 3 8 0 1 の構成の一例を示す。

図 3 9 は、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供する処理の手順の一例を示す。

配列表の説明

25 配列番号 1 : フィブロネクチンの核酸配列 (ヒト)

配列番号 2 : フィブロネクチンのアミノ酸配列 (ヒト)

- 配列番号3：ビトロネクチンの核酸配列（マウス）
- 配列番号4：ビトロネクチンのアミノ酸配列（マウス）
- 配列番号5：ラミニンの核酸配列（マウス α 鎖）
- 配列番号6：ラミニンのアミノ酸配列（マウス α 鎖）
- 5 配列番号7：ラミニンの核酸配列（マウス β 鎖）
- 配列番号8：ラミニンのアミノ酸配列（マウス β 鎖）
- 配列番号9：ラミニンの核酸配列（マウス γ 鎖）
- 配列番号10：ラミニンのアミノ酸配列（マウス γ 鎖）
- 配列番号11：フィブロネクチンのアミノ酸配列（ウシ）
- 10 配列番号12：実施例で使用した siRNA
- 配列番号13：マウスの嗅覚レセプター I7 (heptanal-sensitive) の核酸 (Genbank登録番号 (Accession Number) AF106007)。
- 配列番号14：配列番号13に記載の核酸にコードされるタンパク質。
- 15 配列番号15：マウスの嗅覚レセプター S1 (mc9/bc9-equi-sensitive) の核酸 (Genbank登録番号 AF121972)。
- 配列番号16：配列番号15に記載の核酸にコードされるタンパク質。
- 配列番号17：マウスの嗅覚レセプター S50 (cc9-sensitive) の核酸 (Genbank登録番号 AF121980)。
- 20 配列番号18：配列番号17に記載の核酸にコードされるタンパク質。
- 配列番号19：マウスの嗅覚レセプター S19 (mc9/mh9/bc9-equi-sensitive) の核酸 (Genbank登録番号 AF121976)。
- 配列番号20：配列番号19に記載の核酸にコードされるタンパク質。
- 25 配列番号21：マウスの OR23 (lyral-sensitive) (Genbank登録番号 X92969のコード領域のみ) の核酸。

配列番号 22 : 配列番号 21 に記載の核酸にコードされるタンパク質。

配列番号 23 : マウスの嗅覚レセプターについての mOR-EV (vanillin-sensitive) の核酸 (Genbank 登録番号 AB061229)。

5 配列番号 24 : 配列番号 23 に記載の核酸にコードされるタンパク質。

配列番号 25 : マウスの or37a の核酸 (Genbank 登録番号 AJ133424)。

配列番号 26 : 配列番号 25 に記載の核酸にコードされるタンパク質。

10 配列番号 27 : マウスの嗅覚レセプター C6 の核酸 (Genbank 登録番号 AF102523)。

配列番号 28 : 配列番号 27 に記載の核酸にコードされるタンパク質。

配列番号 29 : マウスの嗅覚レセプター F5 の核酸 (Genbank 登録番号 AF102531)。

配列番号 30 : 配列番号 29 に記載の核酸にコードされるタンパク質。

15 配列番号 31 : マウスの嗅覚レセプター S6 の核酸 (Genbank 登録番号 AF121974)。

配列番号 32 : 配列番号 31 に記載の核酸にコードされるタンパク質。

配列番号 33 : マウスの嗅覚レセプター S18 の核酸 (Genbank 登録番号 AF121975)。

20 配列番号 34 : 配列番号 33 に記載の核酸にコードされるタンパク質。

配列番号 35 : マウスの嗅覚レセプター S25 の核酸 (Genbank 登録番号 AF121977)。

配列番号 36 : 配列番号 35 に記載の核酸にコードされるタンパク質。

25 配列番号 37 : マウスの嗅覚レセプター S46 の核酸 (Genbank 登録番号 AF121979)。

配列番号 38 : 配列番号 37 に記載の核酸にコードされるタンパク質。

配列番号 39 : マウスの G タンパク質 α サブユニットの核酸 (Genbank 登録番号 M36778)。

配列番号 40 : 配列番号 39 に記載の核酸にコードされるタンパク質。

5 配列番号 41 : マウスの G タンパク質 β サブユニットの核酸 (Genbank 登録番号 M87286)。

配列番号 42 : 配列番号 41 に記載の核酸にコードされるタンパク質。

配列番号 43 : マウスの G タンパク質 γ サブユニットの核酸 (Genbank 登録番号 U37527)。

配列番号 44 : 配列番号 43 に記載の核酸にコードされるタンパク質。

10 配列番号 45 : マウスの上皮増殖因子 (EGF) レセプターの核酸 (Genbank 登録番号 BC023729)。

配列番号 46 : 配列番号 45 に記載の核酸にコードされるタンパク質。

配列番号 47 : 実施例 9 で使用した siRNA の配列。

配列番号 48 : 実施例 9 で使用した スクランブル RNA の配列。

15

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明の実施の形態を説明する。本明細書の全体にわたり、単数形の表現は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。従って、単数形の冠詞または形容詞（例えば、英語の場合は「a」、「an」、「the」など）は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。また、本明細書において使用される用語は、特に言及しない限り、当該分野で通常用いられる意味で用いられることが理解されるべきである。したがって、他に定義されない限り、本明細書中で使用される全ての専門用語および科学技術用語は、本発明の属する分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。矛盾する場合、本明細書（定

20

25

義を含めて)が優先する。

(用語の定義)

以下に本明細書において特に使用される用語の定義を列挙する。

(細胞生物学)

- 5 本明細書において使用される「細胞」は、当該分野において用いられる最も
広義の意味と同様に定義され、多細胞生物の組織の構成単位であって、外界を
隔離する膜構造に包まれ、内部に自己再生能を備え、遺伝情報およびその発現
機構を有する生命体をいう。本明細書において使用される細胞は、天然に存在
10 する細胞であっても、人工的に改変された細胞（例えば、融合細胞、遺伝子改
変細胞）であってもよい。細胞の供給源としては、例えば、単一の細胞培養物
であり得、あるいは、正常に成長したトランスジェニック動物の胚、血液、ま
たは体組織、または正常に成長した細胞株由来の細胞のような細胞混合物が挙
げられるがそれらに限定されない。

- 本明細書において使用される「デジタル細胞」とは、実験対象の細胞に対す
15 る少なくとも1つの実験データの集合をいう。これらの実験データは、現実の
細胞に対して行った実験の実験条件と実験結果とを関連づけたものである。デ
ジタル細胞は、実験条件が与えられると、その実験条件に関連する実験結果を
再現可能なように構成されている。本明細書において想定されるデジタル細胞
は、実験可能な細胞すべてを包含する。従って、本明細書において説明される
20 すべての細胞に関する記載は、適用可能である限り、デジタル細胞にも適用さ
れることが理解されるべきである。

- デジタル細胞を用いると、現実の細胞に対して行った実験の実験結果をコン
ピュータシステム上で再現することができる。これにより、実験設備を持たな
い研究機関、教育機関および個人においても、細胞に関する教育および最先端
25 の研究を行うことが可能になる。その結果、従来はこの分野に参入することが
不可能であった異業種からもこの分野に参入することが可能になる。

本発明で用いられる細胞は、どの生物由来の細胞（たとえば、任意の種類の単細胞生物（例えば、細菌、酵母）または多細胞生物（例えば、動物（たとえば、脊椎動物、無脊椎動物）、植物（たとえば、単子葉植物、双子葉植物など）など）でもよい。例えば、脊椎動物（たとえば、メクラウナギ類、ヤツメウナギ類、軟骨魚類、硬骨魚類、両生類、爬虫類、鳥類、哺乳動物など）由来の細胞が用いられ、より詳細には、哺乳動物（例えば、単孔類、有袋類、貧歯類、皮翼類、翼手類、食肉類、食虫類、長鼻類、奇蹄類、偶蹄類、管歯類、有鱗類、海牛類、クジラ目、霊長類、齧歯類、ウサギ目など）由来の細胞が用いられる。

1つの実施形態では、霊長類（たとえば、チンパンジー、ニホンザル、ヒト）由来の細胞、特にヒト由来の細胞が用いられるがそれに限定されない。本発明において用いられる細胞は、上記細胞は、幹細胞であってもよく体細胞であってもよい。また、そのような細胞は、付着細胞、浮遊細胞、組織形成細胞およびそれらの混合物などであり得る。そのような細胞は、移植目的に使用されるものであってもよい。

本発明において、臓器が対象とされる場合、そのような臓器はどのような臓器でもよく、また本発明が対象とする組織または細胞は、生物のどの臓器または器官に由来するものでもよい。本明細書において「臓器」または「器官」とは、互換可能に用いられ、生物個体のある機能が個体内の特定の部分に局在して営まれ、かつその部分が形態的に独立性をもっている構造体をいう。一般に多細胞生物（例えば、動物、植物）では器官は特定の空間的配置をもついくつかの組織からなり、組織は多数の細胞からなる。そのような臓器または器官としては、血管系に関連する臓器または器官が挙げられる。1つの実施形態では、本発明が対象とする臓器は、皮膚、血管、角膜、腎臓、心臓、肝臓、臍帯、腸、神経、肺、胎盤、脾臓、脳、四肢末梢、網膜などが挙げられるがそれらに限定されない。本明細書において、本発明の多能性細胞から分化した細胞としては、表皮細胞、脾実質細胞、脾管細胞、肝細胞、血液細胞、心筋細胞、骨格筋細胞、

骨芽細胞、骨格筋芽細胞、神経細胞、血管内皮細胞、色素細胞、平滑筋細胞、脂肪細胞、骨細胞、軟骨細胞などが挙げられるがそれらに限定されない。

本明細書において「組織」(tissue)とは、多細胞生物において、実質的に同一の機能および／または形態をもつ細胞集団をいう。通常「組織」は、
5 同一起源を有するが、異なる起源を持つ細胞集団であっても、同一の機能および／または形態を有するのであれば、組織と呼ばれ得る。従って、本発明の幹細胞を用いて組織を再生する場合、2以上の異なる起源を有する細胞集団が一つの組織を構成し得る。通常、組織は、臓器の一部を構成する。動物の組織は、形態的、機能的または発生的根拠に基づき、上皮組織、結合組織、筋肉組織、
10 神経組織などに区別される。植物では、構成細胞の発達段階によって分裂組織と永久組織とに大別され、また構成細胞の種類によって単一組織と複合組織とに分けるなど、いろいろな分類が行われている。

本明細書において「幹細胞」とは、自己複製能を有し、多分化能(すなわち多能性)(「pluripotency」)を有する細胞をいう。幹細胞は通常、
15 組織が傷害を受けたときにその組織を再生することができる。本明細書では幹細胞は、胚性幹(ES)細胞または組織幹細胞(組織性幹細胞、組織特異的幹細胞または体性幹細胞ともいう)であり得るがそれらに限定されない。また、上述の能力を有している限り、人工的に作製した細胞)もまた、幹細胞であり得る。胚性幹細胞とは初期胚に由来する多能性幹細胞をいう。胚性幹細胞は、
20 1981年に初めて樹立され、1989年以降ノックアウトマウス作製にも応用されている。1998年にはヒト胚性幹細胞が樹立されており、再生医学にも利用されつつある。組織幹細胞は、胚性幹細胞とは異なり、分化の方向が限定されている細胞であり、組織中の特定の位置に存在し、未分化な細胞内構造をしている。従って、組織幹細胞は多能性のレベルが低い。組織幹細胞は、核
25 /細胞質比が高く、細胞内小器官が乏しい。組織幹細胞は、概して、多分化能を有し、細胞周期が遅く、個体の一生以上に増殖能を維持する。本明細書にお

いて使用される場合は、幹細胞は胚性幹細胞であっても、組織幹細胞であってもよい。

由来する部位により分類すると、組織幹細胞は、例えば、皮膚系、消化器系、骨髄系、神経系などに分けられる。皮膚系の組織幹細胞としては、表皮幹細胞、毛嚢幹細胞などが挙げられる。消化器系の組織幹細胞としては、膵（共通）幹細胞、肝幹細胞などが挙げられる。骨髄系の組織幹細胞としては、造血幹細胞、間葉系幹細胞などが挙げられる。神経系の組織幹細胞としては、神経幹細胞、網膜幹細胞などが挙げられる。

本明細書において「体細胞」とは、卵子、精子などの生殖細胞以外の細胞であり、そのDNAを次世代に直接引き渡さない全ての細胞をいう。体細胞は通常、多能性が限定されているかまたは消失している。本明細書において使用される体細胞は、天然に存在するものであってもよく、遺伝子改変されたものであってもよい。

細胞は、由来により、外胚葉、中胚葉および内胚葉に由来する幹細胞に分類され得る。外胚葉由来の細胞は、主に脳に存在し、神経幹細胞などが含まれる。中胚葉由来の細胞は、主に骨髄に存在し、血管幹細胞、造血幹細胞および間葉系幹細胞などが含まれる。内胚葉由来の細胞は主に臓器に存在し、肝幹細胞、膵幹細胞などが含まれる。本明細書では、体細胞はどのような胚葉由来でもよい。好ましくは、体細胞は、リンパ球、脾臓細胞または精巣由来の細胞が使用され得る。

本明細書において「単離された」とは、通常環境において天然に付随する物質が少なくとも低減されていること、好ましくは実質的に含まないをいう。従って、単離された細胞とは、天然環境において付随する他の物質（たとえば、他の細胞、タンパク質、核酸分子など）を実質的に含まない細胞をいう。核酸分子またはポリペプチドについていう場合、「単離された」とは、たとえば、組換えDNA技術により作製された場合には細胞物質または培養培地を実質的

- に含まず、化学合成された場合には前駆体化学物質またはその他の化学物質を
実質的に含まない、核酸分子またはポリペプチドを指す。単離された核酸分子
は、好ましくは、その核酸分子が由来する生物において天然に該核酸分子に隣
接している (f l a n k i n g) 配列 (即ち、該核酸の 5' 末端および 3' 末
5 端に位置する配列) を含まない。

本明細書において、「樹立された」または「確立された」細胞とは、特定の性
質 (例えば、多分化能) を維持し、かつ、細胞が培養条件下で安定に増殖し続
けるようになった状態をいう。したがって、樹立された幹細胞は、多分化能を
維持する。

- 10 本明細書において「分化 (した) 細胞」とは、機能および形態が特殊化した
細胞 (例えば、筋細胞、神経細胞など) をいい、幹細胞とは異なり、多能性は
ないか、またはほとんどない。分化した細胞としては、例えば、表皮細胞、脾
実質細胞、脾管細胞、肝細胞、血液細胞、心筋細胞、骨格筋細胞、骨芽細胞、
骨格筋芽細胞、神経細胞、血管内皮細胞、色素細胞、平滑筋細胞、脂肪細胞、
15 骨細胞、軟骨細胞などが挙げられる。

- 本明細書において細胞の「状態」とは、細胞の種々のパラメータ (例えば、
細胞周期、外来因子に対する応答、シグナル伝達、遺伝子発現、遺伝子の転写
など) に関する状況をさす。そのような状態としては、例えば、分化状態、未
分化状態、外来因子に対する細胞応答、細胞周期、増殖状態などが挙げられる
20 がそれらに限定されない。

- 本明細書において、「分化」または「細胞分化」とは、1 個の細胞の分裂によ
って由来した娘細胞集団の中で形態的および／または機能的に質的な差をもつ
た二つ以上のタイプの細胞が生じてくる現象をいう。従って、元来特別な特徴
を検出できない細胞に由来する細胞集団 (細胞系譜) が、特定のタンパク質の
25 産生などはっきりした特徴を示すに至る過程も分化に包含される。現在では細胞
分化を、ゲノム中の特定の遺伝子群が発現した状態と考えることが一般的で

あり、このような遺伝子発現状態をもたらす細胞内あるいは細胞外の因子または条件を探索することにより細胞分化を同定することができる。細胞分化の結果は原則として安定であって、特に動物細胞では、別のタイプの細胞に分化することは例外的にしか起こらない。

- 5 本明細書において「多能性」または「多分化能」とは、互換可能に用いられ、細胞の性質をいい、1以上、好ましくは2以上の種々の組織または臓器に分化し得る能力をいう。従って、「多能性」および「多分化能」は、本明細書においては特に言及しない限り「未分化」と互換可能に用いられる。通常、細胞の多能性は発生が進むにつれて制限され、成体では一つの組織または器官の構成細胞が別のものの細胞に変化することは少ない。従って多能性は通常失われている。とくに上皮性の細胞は他の上皮性細胞に変化しにくい。これが起きる場合通常病的な状態であり、化生 (metaplasia) と呼ばれる。しかし間葉系細胞では比較的単純な刺激で他の間葉性細胞にかわり化生を起こしやすいので多能性の程度は高い。胚性幹細胞は、多能性を有する。組織幹細胞は、多能性を有する。本明細書において、多能性のうち、受精卵のように生体を構成する全ての種類の細胞に分化する能力は全能性といい、多能性は全能性の概念を包含し得る。ある細胞が多能性を有するかどうかは、たとえば、体外培養系における、胚様体 (Embryoid Body) の形成、分化誘導条件下での培養等が挙げられるがそれらに限定されない。また、生体を用いた多能性の有無についてのアッセイ法としては、免疫不全マウスへの移植による奇形種 (テラトーマ) の形成、胚盤胞への注入によるキメラ胚の形成、生体組織への移植、腹水への注入による増殖等が挙げられるがそれらに限定されない。本明細書において、多能性のうち、受精卵のように生体を構成する全ての種類の細胞に分化する能力は「全能性」といい、多能性は全能性の概念を包含し得る。また、
- 25 1つの方向にのみ分化する能力は、単能性ともいう。

(生化学・分子生物学)

- 本明細書において「因子」(a g e n t)としては、意図する目的を達成することができる限りどのような物質または他の要素(例えば、光、放射能、熱、電気などのエネルギー)でもあってもよい。そのような物質としては、例えば、タンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、ペプチド、ポリヌクレオチド、
- 5 オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、核酸(例えば、cDNA、ゲノムDNAのようなDNA、mRNAのようなRNAを含む)、ポリサッカリド、オリゴサッカリド、脂質、有機低分子(例えば、ホルモン、リガンド、情報伝達物質、有機低分子、コンビナトリアルケミストリで合成された分子、医薬品として利用され得る低分子(例えば、低分子リガンドなど)など)、これらの複合分子が
- 10 挙げられるがそれらに限定されない。ポリヌクレオチドに対して特異的な因子としては、代表的には、そのポリヌクレオチドの配列に対して一定の配列相同性を(例えば、70%以上の配列同一性)もって相補性を有するポリヌクレオチド、プロモーター領域に結合する転写因子のようなポリペプチドなどが挙げられるがそれらに限定されない。ポリペプチドに対して特異的な因子としては、
- 15 代表的には、そのポリペプチドに対して特異的に指向された抗体またはその誘導体あるいはその類似物(例えば、単鎖抗体)、そのポリペプチドがレセプターまたはリガンドである場合の特異的なリガンドまたはレセプター、そのポリペプチドが酵素である場合、その基質などが挙げられるがそれらに限定されない。

- 本明細書において「生物学的因子」とは、生命体(例えば、細胞)に関連する因子をいう。好ましくは、通常の状態では細胞に存在する因子を生物学的因子という。そのような生物学的因子としては、例えば、核酸分子、タンパク質、糖、脂肪、代謝物、低分子、それらの複合体など、ならびに時間的要素が入った因子などが挙げられるがそれらに限定されない。あるいは、生物学的因子としては、電流、電位(例えば、膜電位など)、pH、浸透圧なども本発明に包含
- 20 されることが理解される。本明細書において有用な生物学的因子としては、例えば、転写制御配列(例えば、プロモーターなど)、構造遺伝子またはそれをコ
- 25

ードする核酸分子挙げられる。「生物学的因子」の「集合体」とは、本明細書において使用される場合、複数の生物学的因子（同種または異種）をいう。好ましくは、協働している生物学的因子をさす。

本明細書において、「遺伝子」とは、遺伝形質を規定する因子をいう。通常染色体上に一定の順序に配列している。タンパク質の一次構造を規定するものを構造遺伝子といい、その発現を左右するものを調節遺伝子（たとえば、プロモーター）という。本明細書では、遺伝子は、特に言及しない限り、構造遺伝子および調節遺伝子を包含する。近年では、ゲノムが解析され、配列自体はすべて判明している。その機能は必ずしも判明しているわけではないが、タンパク質もRNAもコードしない配列も存在する。そのような配列もまた、遺伝形質に影響を有していることが充分理解され、したがって、そのような配列もまた、本明細書の最も広義な定義においては遺伝子の概念に入ることが理解される。したがって、例えば、サイクリン遺伝子というときは、通常、サイクリンの構造遺伝子およびサイクリンのプロモーターの両方を包含する。本明細書では、

「遺伝子」は、「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「核酸分子」および「核酸」ならびに／または「タンパク質」、「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」を指すことがある。本明細書においてはまた、「遺伝子産物」は、遺伝子によって発現された「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「核酸分子」および「核酸」ならびに／または「タンパク質」、「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」を包含する。当業者であれば、遺伝子産物が何たるかはその状況に応じて理解することができる。

本明細書において配列（例えば、核酸配列、アミノ酸配列など）の「相同性」とは、2以上の遺伝子配列の、互いに対する同一性の程度をいう。従って、ある2つの遺伝子の相同性が高いほど、それらの配列の同一性または類似性は高い。2種類の遺伝子が相同性を有するか否かは、配列の直接の比較、または核酸の場合ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーション法によって調

べられ得る。2つの遺伝子配列を直接比較する場合、その遺伝子配列間でDNA配列が、代表的には少なくとも50%同一である場合、好ましくは少なくとも70%同一である場合、より好ましくは少なくとも80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一である場合、それらの遺伝子は相同性を有する。本明細書において、配列（例えば、核酸配列、アミノ酸配列など）の「類似性」とは、上記相同性において、保存的置換をポジティブ（同一）とみなした場合の、2以上の遺伝子配列の、互いに対する同一性の程度をいう。従って、保存的置換がある場合は、その保存的置換の存在に応じて同一性と類似性とは異なる。また、保存的置換がない場合は、同一性と類似性とは同じ数値を示す。

本明細書では、アミノ酸配列および塩基配列の類似性、同一性および相同性の比較は、配列分析用ツールであるFASTAを用いてデフォルトパラメータを用いて算出される。

本明細書において使用される用語「タンパク質」、「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さのアミノ酸のポリマーをいう。このポリマーは、直鎖であっても分岐していてもよく、環状であってもよい。アミノ酸は、天然のものであっても非天然のものであってもよく、改変されたアミノ酸であってもよい。この用語はまた、複数のポリペプチド鎖の複合体へとアセンブルされたものを包含し得る。この用語はまた、天然または人工的に改変されたアミノ酸ポリマーも包含する。そのような改変としては、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化または任意の他の操作もしくは改変（例えば、標識成分との結合体化）。この定義にはまた、例えば、アミノ酸の1または2以上のアナログを含むポリペプチド（例えば、非天然のアミノ酸などを含む）、ペプチド様化合物（例えば、ペプトイド）および当該分野において公知の他の改変が包含される。フィブロネクチンのような細胞外マトリクスタンパク質の遺伝

子産物は、通常ポリペプチド形態をとる。

本明細書において使用される用語「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「核酸分子」および「核酸」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さのヌクレオチドのポリマーをいう。この用語はまた、「誘導体オリゴヌクレオチド」または「誘導体ポリヌクレオチド」を含む。「誘導体オリゴヌクレオチド」または「誘導体ポリヌクレオチド」とは、ヌクレオチドの誘導体を含むか、またはヌクレオチド間の結合が通常とは異なるオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドをいい、互換的に使用される。そのようなオリゴヌクレオチドとして具体的には、例えば、2'-O-メチル-リボヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がホスホロチオエート結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がN3'-P5'ホスホロアミデート結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリボースとリン酸ジエステル結合とがペプチド核酸結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC-5プロピニルウラシルで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC-5チアゾールウラシルで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のシトシンがC-5プロピニルシトシンで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のシトシンがフェノキサジン修飾シトシン (phenoxazine-modified cytosine) で置換された誘導体オリゴヌクレオチド、DNA中のリボースが2'-O-プロピルリボースで置換された誘導体オリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチド中のリボースが2'-メトキシエトキシリボースで置換された誘導体オリゴヌクレオチドなどが例示される。他にそうではないと示されなければ、特定の核酸配列はまた、明示的に示された配列と同様に、その保存的に改変された改変体 (例えば、縮重コドン置換体) および相補配列を包含することが企図される。具体的には、縮重コドン置換体は、

1 またはそれ以上の選択された（または、すべての）コドンの3番目の位置が
混合塩基および／またはデオキシイノシン残基で置換された配列を作成するこ
とにより達成され得る（Batzera, Nucleic Acid Res.
19:5081 (1991); Ohtsukaら, J. Biol. Chem. 2
5 60:2605-2608 (1985); Rossoliniら, Mol. Ce
ll. Probes 8:91-98 (1994))。フィブロネクチンのよう
な細胞外マトリクスタンパク質などの遺伝子は、通常、このポリヌクレオチド
形態をとる。また、トランスフェクションの対象となる分子もこのポリヌクレ
オチドである。

- 10 本明細書において、「対応する」アミノ酸または核酸とは、それぞれあるポリ
ペプチド分子またはポリヌクレオチド分子において、比較の基準となるポリペ
プチドまたはポリヌクレオチドにおける所定のアミノ酸と同様の作用を有する
か、あるいは有することが予測されるアミノ酸または核酸をいい、特に酵素分
子にあっては、活性部位中の同様の位置に存在し触媒活性に同様の寄与をする
15 アミノ酸をいう。例えば、あるポリヌクレオチドの転写制御配列であれば、そ
の転写制御配列の特定の部分に対応するオルソログにおける同様の部分であり
得る。

- 本明細書において、「対応する」遺伝子（例えば、ポリペプチドまたは核酸分
子）とは、ある種において、比較の基準となる種における所定の遺伝子と同様
20 の作用を有するか、または有することが予測される遺伝子をいい、そのような
作用を有する遺伝子が複数存在する場合、進化学的に同じ起源を有するものを
いう。従って、ある遺伝子の対応する遺伝子は、その遺伝子のオルソログある
いは種相同体であり得る。したがって、マウスサイクリン遺伝子に対応する遺
伝子は、他の動物においても見出すことができる。そのような対応する遺伝子
25 は、当該分野において周知の技術を用いて同定することができる。したがって、
例えば、ある動物における対応する遺伝子は、対応する遺伝子の基準となる遺

伝子（例えば、マウスサイクリン遺伝子）の配列をクエリ配列として用いてその動物（例えばヒト、ラット）の配列データベースを検索することによって見出すことができる。

- 本明細書において、「フラグメント」とは、全長のポリペプチドまたはポリヌクレオチド（長さが n ）に対して、 $1 \sim n-1$ までの配列長さを有するポリペプチドまたはポリヌクレオチドをいう。フラグメントの長さは、その目的に応じて、適宜変更することができ、例えば、その長さの下限としては、ポリペプチドの場合、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50 およびそれ以上のアミノ酸が挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ（例えば、11 など）もまた、下限として適切であり得る。また、ポリヌクレオチドの場合、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、75、100 およびそれ以上のヌクレオチドが挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ（例えば、11 など）もまた、下限として適切であり得る。本明細書において、ポリペプチドおよびポリヌクレオチドの長さは、上述のようにそれぞれアミノ酸または核酸の個数で表すことができるが、上述の個数は絶対的なものではなく、同じ機能を有する限り、上限または加減としての上述の個数は、その個数の上下数個（または例えば上下10%）のものも含むことが意図される。そのような意図を表現するために、本明細書では、個数の前に「約」を付けて表現することがある。
- しかし、本明細書では、「約」のあるなしはその数値の解釈に影響を与えないことが理解されるべきである。

- 本明細書において「生物学的活性」とは、ある因子（例えば、ポリペプチドまたは核酸分子など）が、生体内において有し得る活性のことをいい、種々の機能（例えば、転写促進活性）を発揮する活性が包含される。例えば、ある因子がアンチセンス分子である場合、その生物学的活性は、対象となる核酸分子への結合、それによる発現抑制などを包含する。例えば、ある因子が酵素であ

る場合、その生物学的活性は、その酵素活性を包含する。別の例では、ある因子がリガンドである場合、そのリガンドが対応するレセプターへの結合を包含する。その生物学的活性が転写調節活性である場合は、転写レベルまたはその変動を調節する活性をいう。そのような生物学的活性は、当該分野において周知の技術によって測定することができる。

本明細書において、「ストリンジェントな条件でハイブリダイズするポリヌクレオチド」とは、当該分野で慣用される周知の条件をいう。本発明のポリヌクレオチド中から選択されたポリヌクレオチドをプローブとして、コロニー・ハイブリダイゼーション法、ブランク・ハイブリダイゼーション法あるいはサザンブロットハイブリダイゼーション法等を用いることにより、そのようなポリヌクレオチドを得ることができる。具体的には、コロニーあるいはブランク由来のDNAを固定化したフィルターを用いて、0.7～1.0MのNaCl存在下、65℃でハイブリダイゼーションを行った後、0.1～2倍濃度のSSC (saline-sodium citrate) 溶液 (1倍濃度のSSC溶液の組成は、150mM 塩化ナトリウム、15mM クエン酸ナトリウムである) を用い、65℃条件下でフィルターを洗浄することにより同定できるポリヌクレオチドを意味する。ハイブリダイゼーションは、Molecular Cloning 2nd ed., Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1～38、DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University Press (1995) 等の実験書に記載されている方法に準じて行うことができる。ここで、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列からは、好ましくは、A配列のみまたはT配列のみを含む配列が除外される。「ハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド」とは、上記ハイブリダイズ条件下で別のポリヌクレオチドにハイブリダイズすること

ができるポリヌクレオチドをいう。ハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドとして具体的には、本発明で具体的に示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするDNAの塩基配列と少なくとも60%以上の相同性を有するポリヌクレオチド、好ましくは80%以上の相同性を有するポリヌクレオチド、
5 さらに好ましくは95%以上の相同性を有するポリヌクレオチドを挙げることができる。

本明細書において「塩」は、当該分野において通常用いられる最も広い意味と同じ意味で用いられ、無機塩および有機塩の両方を含む。塩は、通常、酸と塩基との中和反応によって生成する。塩には中和反応で生成する NaCl 、 K_2SO_4 などといったもののほかに、金属と酸との反応で生成する PbSO_4 、 ZnCl_2 など種々の種類があり、これらは、直接中和反応によって生成したもの
10 でなくても、酸と塩基との中和反応から生成したとみなすことができる。塩としては、正塩（酸のHや塩基のOHが塩に含まれていないもの、例えば、 NaCl 、 NH_4Cl 、 CH_3COONa 、 Na_2CO_3 ）、酸性塩（酸のHが塩に残っているもの、例えば、 NaHCO_3 、 KHSO_4 、 CaHPO_4 ）、塩基性塩（塩基のOHが塩の中に残っているもの、例えば、 MgCl(OH) 、 CuCl(OH) ）などに分類することができるがそれらの分類は、本発明においてはそれほど重要ではない。好ましい塩としては、培地を構成する塩（例えば、塩化カルシウム、リン酸水素ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、ピルビン酸ナトリウム、
15 HEPES、塩化カルシウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、硫化マグネシウム、硝酸鉄、アミノ酸、ビタミン、緩衝液を構成する塩（例えば、塩化カルウム、塩化マグネシウム、リン酸水素ナトリウム、塩化ナトリウム）などが好ましい。細胞に対する親和性を保持または改善する効果がより高いからである。これらの塩は、単独で用いてもよいし、複数用いてもよい。複数用いることが
20 好ましい。細胞に対する親和性が高くなる傾向があるからである。従って、 NaCl などを単独で用いるよりも、培地中に含まれる塩（例えば、塩化カルシ

ウム、塩化マグネシウム、リン酸水素ナトリウム、塩化ナトリウム)を複数を
用いることが好ましく、より好ましくは、培地中に含まれる塩全部をそのまま
使用することが有利であり得る。別の好ましい実施形態では、グルコースを加
えてもよい。

- 5 本明細書において使用される用語「物質」は、当該分野において用いられる
最も広義な意味と同じ意味で含まれ、正または負に荷電することができるもの
を含む。

- 本明細書において「正に荷電した物質」は、正荷電を有するすべての物質を
包含する。そのような物質としては、例えば、カチオン性ポリマー、カチオン
10 性脂質などのカチオン性物質が含まれるがそれらに限定されない。好ましくは、
そのような正に荷電した物質は、複合体を形成することができる物質であるこ
とが有利である。そのような複合体を形成することができる正に荷電した物質
としては、例えば、カチオン性ポリマーのようにある程度の分子量を有する物
質、あるいは、カチオン性脂質のように特定の溶媒（例えば、水、水溶液など）
15 中においてある程度溶解せずに残存することができる物質などが挙げられるが
それらに限定されない。そのような好ましい正に荷電した物質としては、例え
ば、ポリエチレンイミン、ポリリシン、合成ポリペプチドもしくはそれらの
誘導体などが挙げられるがそれらに限定されない。あるいは、正に荷電した物
質としては、ヒストン、合成ポリペプチドなどのような生体分子が挙げられる
20 がそれらに限定されない。そのような好ましい正に荷電した物質の種類は、複
合体を形成するパートナーである負に荷電した物質の種類に応じて変動する。
好ましい複合体形成パートナーを選択することは、当業者には容易であり、そ
のような選択は、当該分野において周知の技術を用いて行うことができる。そ
のような好ましい複合体形成パートナーの選択においては、種々のパラメータ
25 を考慮することができる。そのようなパラメータとしては、例えば、電荷、分
子量、疎水性、親水性、置換基の性質、pH、温度、塩濃度、圧力などの種々

の物理的パラメータ、化学的パラメータなどが挙げられるがそれらに限定されない。

- 本明細書において「カチオン性ポリマー」は、カチオン性の官能基を有するポリマーをいい、例えば、ポリエチレンイミン、ポリLリシン、合成ポリペプチドもしくはそれらの誘導体が挙げられるがそれらに限定されない。

本明細書において「カチオン性脂質」は、カチオン性の官能基を有する脂質をいい、例えば、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、及びその誘導体が挙げられるがそれらに限定されない。

- ここで、カチオン性の官能基としては、例えば、一級アミン、二級アミン、三級アミンが挙げられるがそれらに限定されない。

- 本明細書において「負に荷電した物質」は、負荷電を有するすべての物質を包含する。そのような物質としては、例えば、DNAなどの生体分子ポリマー、アニオン性脂質などのアニオン性物質が含まれるがそれらに限定されない。好ましくは、そのような負に荷電した物質は、複合体を形成することができる物質であることが有利である。そのような複合体を形成することができる負に荷電した物質としては、例えば、DNAのようなアニオン性ポリマーのようにある程度の分子量を有する物質、あるいは、アニオン性脂質のように特定の溶媒（例えば、水、水溶液など）中においてある程度溶解せずに残存することができる物質などが挙げられるがそれらに限定されない。そのような好ましい負に荷電した物質としては、例えば、DNA、RNA、PNA、ポリペプチド、化合物、及びその複合体などが挙げられるがそれらに限定されない。あるいは、負に荷電した物質としては、DNA、RNA、PNA、ポリペプチド、化合物、及びその複合体などのような生物学的因子または生体分子が挙げられるがそれらに限定されない。そのような好ましい負に荷電した物質の種類は、複合体を形成するパートナーである正に荷電した物質の種類に応じて変動する。好ましい複合体形成パートナーを選択することは、当業者には容易であり、そのよう

な選択は、当該分野において周知の技術を用いて行うことができる。そのような好ましい複合体形成パートナーの選択においては、種々のパラメータを考慮することができる。そのようなパラメータもまた、上述の正に荷電した物質において考慮すべきパラメータと同様、種々のものを包含する。

- 5 本明細書において「アニオン性ポリマー」は、アニオン性の官能基を有するポリマーをいい、例えば、DNA、RNA、PNA、ポリペプチド、化合物、及びその複合体が挙げられるがそれらに限定されない。

- 本明細書において「アニオン性脂質」は、アニオン性の官能基を有する脂質をいい、例えば、ホスファチジン酸、ホスファチジルセリンが挙げられるがそれらに限定されない。
- 10

ここで、アニオン性の官能基としては、例えば、カルボキシル基、リン酸基が挙げられるがそれらに限定されない。

- また、目的の物質に対して、正電荷または負電荷を有する置換基などの部分を付加することによって、その目的の物質の電荷を変換することも可能である。
- 15 好ましい複合体パートナーが固定を目的とする物質と同じ電荷を有している場合に、いずれかの電荷を変換することによって複合体形成を促進することが可能である。

- 本明細書において「複合体」とは、二つ以上の物質が互いに直接的または間接的に相互作用する結果、それらの物質の総体があたかも1つの物質のように挙動するものをいう。
- 20

本明細書において「複合体パートナー」とは、複合体を形成するあるメンバーについて言及するとき、そのメンバーと直接的または間接的に相互作用する別のメンバーをいう。

- 本明細書において複合体を形成する条件は、複合体パートナーの種類に応じて変動する。そのような条件は、当業者は容易に理解することができ、当該分野において周知の技法を用いて任意の複合体パートナー（例えば、正に荷電し
- 25

た物質および負に荷電した物質) から複合体を形成させることができる。

本明細書において、正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体が使用されるとき、そのいずれかまたは両方は、生物学的因子と同一であってもよい。

- 5 本明細書において「固定」とは、固相支持体について用いられるとき、その対象となる物質（例えば、生体分子）がその支持体において少なくともある一定の時間の間保持される状態またはそのような状態にさせることをいう。従って、物質が固相支持体上で固定された後、条件が変化する（例えば、別の溶媒中に浸される）場合は、その固定状態が解除されてもよい。

- 10 本明細書において用いられる「細胞親和性」とは、ある物質が細胞（例えば、細菌細胞、動物細胞、酵母、植物細胞など）または細胞を含む物体（例えば、組織、臓器、生体など）と相互作用が可能な状態に置かれたときに、その細胞または細胞を含む物体に対して有害な影響を与えない性質をいう。好ましくは、細胞親和性を有する物質は、細胞が優先的に相互作用する物質であり得るがそれに限定されない。本発明では、固定されるべき物質（例えば、正に荷電した物質および／または負に荷電した物質）は、細胞親和性を有することが好まし
15 いがそれに限定されない。固定されるべき物質が細胞親和性を有する場合、その物質が本発明にしたがって固定されると、細胞親和性が保持または改善されることが予想外に見いだされた。通常、細胞親和性を有する物質が固相支持体に固定される場合は、必ずしも細胞親和性が保持されるとは限らなかったこと
20 に鑑みると、本発明の効果は計り知れない。

本明細書において「プローブ」とは、インビトロおよび／またはインビボなどのスクリーニングなどの生物学的実験において用いられる、検索の対象となる物質をいい、例えば、特定の塩基配列を含む核酸分子または特定のアミノ酸配列を含むペプチドなどが挙げられるがそれに限定されない。

- 25 通常プローブとして用いられる核酸分子としては、目的とする遺伝子の核酸配列と相同なまたは相補的な、少なくとも 8 の連続するヌクレオチド長の核酸

配列を有するものが挙げられる。そのような核酸配列は、好ましくは、少なくとも9の連続するヌクレオチド長の、より好ましくは10の連続するヌクレオチド長の、さらに好ましくは11の連続するヌクレオチド長の、12の連続するヌクレオチド長の、13の連続するヌクレオチド長の、14の連続するヌクレオチド長の、15の連続するヌクレオチド長の、20の連続するヌクレオチド長の、25の連続するヌクレオチド長の、30の連続するヌクレオチド長の、40の連続するヌクレオチド長の、50の連続するヌクレオチド長の、核酸配列であり得る。プローブとして使用される核酸配列には、上述の配列に対して、少なくとも70%相同な、より好ましくは、少なくとも80%相同な、さらに好ましくは、90%相同な、95%相同な核酸配列が含まれる。

本明細書において、「検索」とは、電子的にまたは生物学的あるいは他の方法により、ある核酸塩基配列を利用して、特定の機能および／または性質を有する他の核酸塩基配列を見出すことをいう。電子的な検索としては、BLAST (Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990)), FASTA (Pearson & Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci., USA 85:2444-2448 (1988)), Smith and Waterman法 (Smith and Waterman, J. Mol. Biol. 147:195-197 (1981)), および Needleman and Wunsch法 (Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443-453 (1970)) などが挙げられるがそれらに限定されない。生物学的な検索としては、ストリンジェントハイブリダイゼーション、ゲノムDNAをナイロンメンブレン等に貼り付けたマクロアレイまたはガラス板に貼り付けたマイクロアレイ (マイクロアレイアッセイ)、PCRおよび in situ ハイブリダイゼーションなどが挙げられるがそれらに限定されない。

本明細書における「プライマー」とは、高分子合成酵素反応において、合成

される高分子化合物の反応の開始に必要な物質をいう。核酸分子の合成反応では、合成されるべき高分子化合物の一部の配列に相補的な核酸分子（例えば、DNAまたはRNAなど）が用いられ得る。

通常プライマーとして用いられる核酸分子としては、目的とする遺伝子の核酸配列と相補的な、少なくとも8の連続するヌクレオチド長の核酸配列を有するものが挙げられる。そのような核酸配列は、好ましくは、少なくとも9の連続するヌクレオチド長の、より好ましくは10の連続するヌクレオチド長の、さらに好ましくは11の連続するヌクレオチド長の、12の連続するヌクレオチド長の、13の連続するヌクレオチド長の、14の連続するヌクレオチド長の、15の連続するヌクレオチド長の、16の連続するヌクレオチド長の、17の連続するヌクレオチド長の、18の連続するヌクレオチド長の、19の連続するヌクレオチド長の、20の連続するヌクレオチド長の、25の連続するヌクレオチド長の、30の連続するヌクレオチド長の、40の連続するヌクレオチド長の、50の連続するヌクレオチド長の、核酸配列であり得る。プローブとして使用される核酸配列には、上述の配列に対して、少なくとも70%相同な、より好ましくは、少なくとも80%相同な、さらに好ましくは、90%相同な、95%相同な核酸配列が含まれる。プライマーとして適切な配列は、合成（増幅）が意図される配列の性質によって変動し得るが、当業者は、意図される配列に応じて適宜プライマーを設計することができる。そのようなプライマーの設計は当該分野において周知であり、手動でおこなってもよくコンピュータプログラム（例えば、LASERGENE, Primer Select, DNASTar）を用いて行ってもよい。

本明細書において、「エピトープ」とは、構造の明らかな抗原決定基をいう。従って、エピトープには特定の免疫グロブリンによる認識に関与するアミノ酸残基のセット、または、T細胞の場合は、T細胞レセプタータンパク質および／もしくは主要組織適合性複合体（MHC）レセプターによる認識について必

要であるアミノ酸残基のセットが包含される。この用語はまた、「抗原決定基」または「抗原決定部位」と交換可能に使用される。免疫系分野において、インビボまたはインビトロで、エピトープは、分子の特徴（例えば、一次ペプチド構造、二次ペプチド構造または三次ペプチド構造および電荷）であり、免疫グロブリン、T細胞レセプターまたはHLA分子によって認識される部位を形成する。ペプチドを含むエピトープは、エピトープに独特な空間的コンフォメーション中に3つ以上のアミノ酸を含み得る。一般に、エピトープは、少なくとも5つのこのようなアミノ酸からなり、代表的には少なくとも6つ、7つ、8つ、9つ、または10のこのようなアミノ酸からなる。エピトープの長さは、より長いほど、もとのペプチドの抗原性に類似することから一般的に好ましいが、コンフォメーションを考慮すると、必ずしもそうでないことがある。アミノ酸の空間的コンフォメーションを決定する方法は、当該分野で公知であり、例えば、X線結晶学、および2次元核磁気共鳴分光法を含む。さらに、所定のタンパク質におけるエピトープの同定は、当該分野で周知の技術を使用して容易に達成される。例えば、Geysenら（1984）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998（所定の抗原における免疫原性エピトープの位置を決定するために迅速にペプチドを合成する一般的な方法）；米国特許第4,708,871号（抗原のエピトープを同定し、そして化学的に合成するための手順）；およびGeysenら（1986）Molecular Immunology 23:709（所定の抗体に対して高い親和性を有するペプチドを同定するための技術）を参照されたい。同じエピトープを認識する抗体は、単純な免疫アッセイにおいて同定され得る。このように、ペプチドを含むエピトープを決定する方法は、当該分野において周知であり、そのようなエピトープは、核酸またはアミノ酸の一次配列が提供されると、当業者はそのような周知慣用技術を用いて決定することができる。

従って、ペプチドを含むエピトープとして使用するためには、少なくとも3

アミノ酸の長さの配列が必要であり、好ましくは、この配列は、少なくとも4アミノ酸、より好ましくは5アミノ酸、6アミノ酸、7アミノ酸、8アミノ酸、9アミノ酸、10アミノ酸、15アミノ酸、20アミノ酸、25アミノ酸の長さの配列が必要であり得る。

- 5 本明細書においてある核酸分子またはポリペプチドに「特異的に結合する因子」とは、その核酸分子またはポリペプチドに対するその因子の結合レベルが、その核酸分子またはポリペプチド以外の核酸分子またはポリペプチドに対するその因子の結合レベルと同じかまたはそれよりも高い因子をいう。そのような因子としては、例えば、対象が核酸分子の場合、対象となる核酸分子に対して
- 10 相補的な配列を有する核酸分子、対象となる核酸配列に対して結合するポリペプチド（例えば、転写因子など）などが挙げられ、対象がポリペプチドの場合、抗体、単鎖抗体、レセプターーリガンドの対のいずれか一方、酵素－基質のいずれか一方などが挙げられるがそれらに限定されない。

- 本明細書において用いられる用語「抗体」は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、多重特異性抗体、キメラ抗体、および抗イディオタイプ抗体、ならびにそれらの断片、例えばF (a b') 2およびF a b断片、ならびにその他の組換えにより生産された結合体を含む。さらにこのような抗体を、酵素、例えばアルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、 α ガラクトシダーゼなど、に共有結合させまたは組換えにより融合
- 15
- 20 させてよい。

- 本明細書中で使用される用語「モノクローナル抗体」は、同質な抗体集団を有する抗体組成物をいう。この用語は、それが作製される様式によって限定されない。この用語は、全免疫グロブリン分子ならびにF a b分子、F (a b') 2フラグメント、F vフラグメント、およびもとのモノクローナル抗体分子の
- 25 免疫学的結合特性を示す他の分子を含む。ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を作製する方法は当該分野で公知であり、そして以下でより十分に

記載される。

モノクローナル抗体は、当該分野で周知の標準的な技術（例えば、K o h l e r および M i l s t e i n , N a t u r e (1 9 7 5) 2 5 6 : 4 9 5) ま たはその改変（例えば、B u c k ら (1 9 8 2) I n V i t r o 1 8 : 3 7 7) を使用して調製される。代表的には、マウスまたはラットを、タンパク質キャリアに結合したタンパク質で免疫化し、追加免疫し、そして脾臓（および必要に応じていくつかの大きなリンパ節）を取り出し、そして単一細胞を分離する。必要に応じて、この脾臓細胞は、非特異的接着細胞の除去後、抗原でコーティングされたプレートまたはウェルに細胞懸濁液を適用することにより、スクリーニングされ得る。抗原に特異的なイムノグロブリンを発現するB細胞がプレートに結合し、そして懸濁液の残渣でもリンス除去されない。次いで、得られたB細胞（すなわちすべての剥離した脾臓細胞）をミエローマ細胞と融合させて、ハイブリドーマを得、このハイブリドーマを用いてモノクローナル抗体を産生させる。

15 本明細書において「抗原」(a n t i g e n) とは、抗体分子によって特異的に結合され得る任意の基質をいう。本明細書において「免疫原」(i m m u n o g e n) とは、抗原特異的免疫応答を生じるリンパ球活性化を開始し得る抗原をいう。

あるタンパク質分子において、配列に含まれるあるアミノ酸は、相互作用結合能力の明らかな低下または消失なしに、例えば、カチオン性領域または基質分子の結合部位のようなタンパク質構造において他のアミノ酸に置換され得る。あるタンパク質の生物学的機能を規定するのは、タンパク質の相互作用能力および性質である。従って、特定のアミノ酸の置換がアミノ酸配列において、またはそのDNAコード配列のレベルにおいて行われ得、置換後もなお、もとの性質を維持するタンパク質が生じ得る。従って、生物学的有用性の明らかな損失なしに、種々の改変が、本明細書において開示されたペプチドまたはこのペ

プチドをコードする対応するDNAにおいて行われ得る。

上記のような改変を設計する際に、アミノ酸の疎水性指数が考慮され得る。タンパク質における相互作用的な生物学的機能を与える際の疎水性アミノ酸指数の重要性は、一般に当該分野で認められている (K y t e, J および D o o l i t t l e, R. F. J. M o l. B i o l. 1 5 7 (1): 1 0 5-1 3 2, 1 9 8 2)。アミノ酸の疎水的性質は、生成したタンパク質の二次構造に寄与し、次いでそのタンパク質と他の分子 (例えば、酵素、基質、レセプター、DNA、抗体、抗原など) との相互作用を規定する。各アミノ酸は、それらの疎水性および電荷の性質に基づく疎水性指数を割り当てられる。それらは: イソロイシン (+4. 5); バリン (+4. 2); ロイシン (+3. 8); フェニルアラニン (+2. 8); システイン/シスチン (+2. 5); メチオニン (+1. 9); アラニン (+1. 8); グリシン (-0. 4); スレオニン (-0. 7); セリン (-0. 8); トリプトファン (-0. 9); チロシン (-1. 3); プロリン (-1. 6); ヒスチジン (-3. 2); グルタミン酸 (-3. 5); グルタミン (-3. 5); アスパラギン酸 (-3. 5); アスパラギン (-3. 5); リジン (-3. 9); およびアルギニン (-4. 5)) である。

あるアミノ酸を、同様の疎水性指数を有する他のアミノ酸により置換して、そして依然として同様の生物学的機能を有するタンパク質 (例えば、酵素活性において等価なタンパク質) を生じさせ得ることが当該分野で周知である。このようなアミノ酸置換において、疎水性指数が±2以内であることが好ましく、±1以内であることがより好ましく、および±0. 5以内であることがさらに好ましい。疎水性に基づくこのようなアミノ酸の置換は効率的であることが当該分野において理解される。

親水性指数もまた、保存的置換において考慮され得る。米国特許第 4, 5 5 4, 1 0 1 号に記載されるように、以下の親水性指数がアミノ酸残基に割り当てられている: アルギニン (+3. 0); リジン (+3. 0); アスパラギン酸

(+3.0 \pm 1); グルタミン酸 (+3.0 \pm 1); セリン (+0.3); アスパラギン (+0.2); グルタミン (+0.2); グリシン (0); スレオニン (-0.4); プロリン (-0.5 \pm 1); アラニン (-0.5); ヒスチジン (-0.5); システイン (-1.0); メチオニン (-1.3); バリン (-1.5);
5 ロイシン (-1.8); イソロイシン (-1.8); チロシン (-2.3); フェニルアラニン (-2.5); およびトリプトファン (-3.4)。アミノ酸が同様の親水性指数を有しかつ依然として生物学的等価体を与え得る別のものに置換され得ることが理解される。このようなアミノ酸置換において、親水性指数が ± 2 以内であることが好ましく、 ± 1 以内であることがより好ましく、およ
10 び ± 0.5 以内であることがさらにより好ましい。

(プロファイルおよび関連技術)

本明細書において、細胞に関する「プロファイル」とは、細胞の生物学的状態の測定の集合をいう。特に、細胞のプロファイルという場合は、プロファイルとは、「細胞構成要素」のレベルを定量的に測定したものの測定値の集合ある
15 いは連続であり得る。細胞構成要素には、生物学的系における遺伝子発現レベル、転写レベル (転写制御配列の活性レベル)、特定の遺伝子をコードする mRNA の存在量、およびタンパク質発現レベルが含まれる。遺伝子をコードする mRNA および/またはタンパク質発現レベルなどの細胞の各種構成要素のレベルは、薬物による処置や他の細胞生物学的状態の刺激 (p e r t u r b a t i o n)
20 または振動に応答して変化することが知られている。したがって、複数のそのような「細胞構成要素」の測定は、細胞の生物学的状態に対する刺激の効果に関する情報を豊富に含むことから、このプロファイルは、細胞の分析および詳細な解析においてますます重要となっている。哺乳動物細胞においては 3 万以上の異なる細胞構成要素が存在する。個々の細胞のプロファイルは通常複雑である。生物学的系の所定の状態のプロファイルは、しばしば、その生物学的系が刺激に付された後で測定される。そのような刺激としては、生物学
25

的系と関係した実験的または環境的状态があり、例えば、生物学的系の薬物候補への暴露、外因性遺伝子の導入、時間の経過、系からの遺伝子の欠失、または培養条件の変更などがある。細胞構成要素の広範囲にわたる測定、つまり細胞における遺伝子の複製または転写、およびタンパク質の発現ならびにそれら

- 5 の刺激に対する応答のプロファイルは、細胞自体の調査に加えて、薬物の効果の比較および検討、疾病の診断、患者の投薬法の最適化を含めて、広範な有用性がある。さらに、それらは基本的なライフサイエンスの研究においても有用である。このようなプロファイルは、種々の形態でデータとして生成され、提示される。そのような形態としては、数字と時間との関数の形態、グラフ形態、
10 画像形態などが挙げられるがそれらに限定されない。したがって、プロファイルに関するデータは、ときに、「プロファイルデータ」と本明細書において称することがある。このようなデータ生成は、コンピュータにより容易に達成され得る。適切なプログラムのコード化もまた当該分野において周知の技術で実施され得る。

- 15 本発明の細胞分析では、細胞またはそれに相互作用する物質に起因する情報を検出することができる限り、種々の検出方法および検出手段を用いることができる。そのような検出方法および検出手段としては、例えば、目視、光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、レーザー光源を用いた読取装置、表面プラズモン共鳴（SPR）イメージング、電気信号、化学的または生化学的マーカーのいずれかあ
20 るいは複数種を用いる方法および手段を挙げることができるがそれらに限定されない。

- 本明細書において特に「経時プロファイル」というとき、ある特定の細胞に関して言及するとき、その細胞に関するあるパラメータの経時変化を示すプロファイルをいう。そのような経時プロファイルとしては、例えば、転写状態の
25 経時プロファイル、発現状態（翻訳状態）の経時プロファイル、シグナル伝達の経時プロファイル、神経電位の経時プロファイルなどがあるがそれらに限定

されない。経時プロファイルを生成するためには、あるパラメータ（例えば、転写状態に関連する標識に起因する信号）を連続して記録し、プロファイル生成する必要がある。経時的に測定することは、連続的に測定することであるから、本明細書において「経時プロファイル」は、ときに、連続プロファイルとも称され得る。

本明細書において細胞の「情報」とは、細胞中に存在する多くの要素を結合して全体として目的を指向させる働きをしているものをいう。情報の集合体がデジタル細胞を構成するといえる。

本明細書において細胞、生物などの「状態」とは、細胞の種々のパラメータ（例えば、細胞周期、外来因子に対する応答、シグナル伝達、遺伝子発現、遺伝子の転写など）に関する状況をさす。そのような状態としては、例えば、分化状態、未分化状態、外来因子に対する細胞応答、細胞周期、増殖状態などが挙げられるがそれらに限定されない。本明細書では、特に、対象となる生物の環境、例えば、温度、湿度（例えば、絶対湿度、相対湿度など）、pH、塩濃度（例えば、塩全体の濃度または特定の塩の濃度）、栄養（例えば、炭水化物量など）、金属（例えば、金属全体の量または特定の金属（例えば、重金属）の濃度など）、ガス（例えば、ガス全体の量または特定のガスの量）、有機溶媒（例えば、有機溶媒全体の量または特定の有機溶媒（例えば、エタノールなど）の量）、圧力（例えば、局所圧または全体の圧など）、気圧、粘性、流速（例えば、培地中に生物が存在する場合のその培地の流速など）、光度（ある特定波長の光量など）、光波長（例えば、可視光のほか紫外線、赤外線なども含み得る）、電磁波、放射線、重力、張力、音波、対象となる生物とは異なる他の生物（例えば、寄生虫、病原菌など）、化学薬品（例えば、医薬品など）、抗生物質、天然物、精神的ストレス、物理的ストレスなどのようなパラメータに対する反応性または耐性を、そのような状態に関する指標として使用することができる。

本明細書においてある主体にとって「環境」(environment、Um

g e b u n g) とは、その主体に対するその外囲をいう。環境は、種々の構成要素、状態量が認められ、これらは環境要因といわれる、上記のようなパラメータが例示される。環境要因は、通常、非生物的環境要因と生物的環境要因と、に大別され得る。非生物的環境要因（無機的環境）を物理的と化学的とに、あるいは気候的と土壌的とに区別することもある。こうした種々の環境要因の生物に対する作用は、各々が独立的して行われるとは限らず、互いに関連しあっている場合が多い。したがって、本明細書では、環境は、それぞれの要因ごとに観察してもよいし、環境要因の総体（種々のパラメータの総体）として認識されてもよい。このような環境を同一に保つすることは従来困難であると考えられてきた。これは特に、細胞の維持が困難であること、細胞をうまく固定することができず、しかも、導入を目的とする遺伝子などの物質が細胞内に導入されることが困難であることに起因する。本発明は、少なくともこれらの1つを解決した。なお、本明細書において「同一の環境」とは、細胞にとって実質的に同一の環境であることを意味する。したがって、細胞が同様に増殖、分化などを行うことができる限り、そのような環境は同一の環境であるといえる。本明細書では、同一の環境とは、特定の刺激（例えば、外部刺激）を除き、他のパラメータが同一であることを意味する。

そのような環境を考慮する要因としては、例えば、温度、湿度、pH、塩濃度、栄養、金属、ガス、有機溶媒、圧力、気圧、粘性、流速、光度、光波長、電磁波、放射線、重力、張力、音波、対象となる生物とは異なる他の生物（例えば、寄生虫）、化学薬品、抗生物質、天然物、化学的ストレスおよび物理的ストレスからなる群より選択される少なくとも1つの因子をパラメータとして包含する。

ここで、温度としては、例えば、高温、低温、超高温（例えば、95℃など）、超低温（例えば、-80℃など）、150～-270℃のような広汎な温度が挙げられるがそれらに限定されない。

湿度としては、例えば、相対湿度 100%、相対湿度 0% など 0～100% の間の任意の点が挙げられるがそれらに限定されない。

pH としては、例えば、0～14 の任意の点が挙げられるがそれらに限定されない。

- 5 塩濃度としては、例えば、NaCl 濃度 (3% など)、他の塩の塩濃度 0～100% のうちの任意の点が挙げられるがそれらに限定されない。

栄養としては、例えば、タンパク質、グルコース、脂質、ビタミン、無機塩等が挙げられるがそれらに限定されない。

- 10 金属としては、例えば、重金属 (例えば、水銀、カドミウムなど)、鉛、金、ウラン、銀が挙げられるがそれらに限定されない。

ガスとしては、例えば、酸素、窒素、二酸化炭素、一酸化炭素、一酸化窒素、およびそれらの混合物などが挙げられるがそれらに限定されない。

有機溶媒としては、例えば、エタノール、メタノール、キシレン、プロパノールなどが挙げられるがそれらに限定されない。

- 15 圧力としては、例えば、0～10 トン/cm² の任意の点などが挙げられるがそれらに限定されない。

気圧としては、例えば、0～100 気圧の任意の点などが挙げられるがそれらに限定されない。

- 20 粘性としては、例えば、水、グリセロールなど任意の流体またはそれらの混合物中の粘性が挙げられるがそれらに限定されない。

流速としては、例えば、0～光速の任意の点などが挙げられるがそれらに限定されない。

光度としては、例えば、暗黒～太陽光の間の一点などが挙げられるがそれらに限定されない。

- 25 光波長としては、例えば、可視光線、紫外線 (UV-A、UV-B、UV-C など)、赤外線 (遠赤外線、近赤外線など) などの任意の波長が挙げられるが

それらに限定されない。

電磁波としては、任意の波長のものが挙げられる。

放射線としては、任意の強度のものが挙げられる。

- 5 重力としては、地球上の任意の重力または無重力～地球上の重力の間の1点、あるいは地球上の重力以上の任意の一点が挙げられるがそれらに限定されない。

張力としては、任意の強度のものが挙げられる。

音波としては、任意の強度および波長のものが挙げられる

対象となる生物とは異なる他の生物としては、例えば、寄生虫、病原菌、昆虫、線虫が挙げられるがそれらに限定されない。

- 10 化学薬品としては、例えば、塩酸、硫酸、苛性ソーダが挙げられるがそれらに限定されない。

抗生物質としては、例えば、ペニシリン、カナマイシン、ストレプトマイシン、キノロン等が挙げられるがそれらに限定されない。

- 15 天然物としては、例えば、ふぐ毒、蛇毒、アルカロイド等が挙げられるがそれらに限定されない。

物理的ストレスとしては、例えば、振動、騒音、電気、衝撃が挙げられるがそれらに限定されない。

- 20 本明細書において本発明のデジタル細胞が使用されるとき、環境は「環境パラメータ」として提示される。環境パラメータは、培地（種類、組成）、pH、温度、湿度、CO₂濃度、O₂濃度、抗生物質の存否、ある特定栄養素の存否などを含むがそれらに限定されない。

- 25 本明細書において「刺激」とは、外部から細胞に対して与えられる特異的な生活活動の発現または増強を喚起・誘発するような作用因子をいう。刺激としては、物理的刺激、化学的刺激、生物学的刺激、生化学的刺激などが挙げられるがそれらに限定されない。物理刺激としては、例えば、光、電波、電流、圧力、音（振動）などが挙げられるがそれらに限定されない。化学的刺激としては、

例えば、化学物質による刺激が挙げられ、例えば、抗生物質、栄養素、ビタミン、金属、イオン、酸、アルカリ、塩、緩衝剤などが挙げられるがそれらに限定されない。生物学的刺激としては、例えば、他の生物の存在（例えば、寄生生物の存在、細胞集団の密度など）が挙げられるがそれらに限定されない。生

5 化学的刺激としては、細胞シグナル伝達因子の存在などが挙げられるがそれらに限定されない。

本明細書において本発明のデジタル細胞が使用されるとき、刺激は「刺激パラメータ」として提示される。刺激パラメータとしては、上述の任意の刺激に対応するパラメータが利用され得る。本明細書では、刺激パラメータには、刺激

10 刺激を伝達するための因子（例えば、レポーター）が含まれることが理解されるべきである。そのようなレポーターとしては、例えば、抗生物質に対するオンオフ、転写制御配列、放射能、蛍光物質などが挙げられるがそれらに限定されない。

本明細書において刺激に対する「応答」は、細胞がある刺激に対して有する

15 すべての応答（例えば、細胞の形状の変化、代謝変化、他の挙動の変化、シグナル伝達の変化など）を意味する。従って、例えば本発明におけるデジタル細胞実験の結果は、細胞動態データとして記録され得る。あるいは、上述のレポーターが利用されるときは、そのような刺激応答結果は、そのレポーターの生データであり得るか、あるいはそのレポーターのデータを変換したデータであり得る。

20

本明細書において「転写制御配列」とは、遺伝子の転写レベルを調節することができる配列をいう。そのような配列は、少なくとも2ヌクレオチド長を有する。そのような配列としては、代表的に、プロモーター、エンハンサー、サイレンサー、ターミネーター、他のゲノム構造中構造遺伝子のフランキング配列およびエキソン以外のゲノム配列、ならびにエキソン中の配列などが挙げら

25

れるがそれらに限定されない。本発明において用いられる転写制御配列は、特

定の種類に関するものではない。むしろ、転写制御配列として重要な情報は、その経時的な変動である。このような変動は、(細胞状態の変化) プロセスともいう。従って、本発明では、このような転写制御配列は、任意に選択することができる。そのような転写制御配列の中には、従来はマーカーとして使用されてい
5 ていなかったものを含んでいてもよい。好ましくは、転写制御配列は、転写因子に結合する能力を有する。

本明細書において「転写因子」とは、遺伝子の転写の過程を調節する因子をいう。転写因子は、主として転写開始反応を調節する因子をさす。RNAポリメラーゼをDNA上のプロモーター領域に配置するために必要な基本転写因子
10 群、および転写領域の上流や下流に存在するシス作用要素に結合してRNAの合成開始頻度を調節する各種の転写調節因子に大別される。

基本転写因子群はRNAポリメラーゼの種類に応じて用意されているが、TATA結合タンパク質は全転写系に共通であるとされている。転写因子の種類は多岐にわたるが、通常、構造上DNA結合に必要な部分と転写活性化または
15 抑制に必要な部分とからなることが多い。DNA結合部位をもちシス作用要素に結合することができる因子を総称してトランス作用因子ともいう。

転写活性化または抑制に必要な部分は、他の転写因子や基本転写因子群との相互作用に関与しており、DNAや転写開始複合体の構造変化を通して転写調節を果たしていると考えられている。これら各部の構造上の特性から転写調節
20 因子はいくつかのグループあるいはファミリーに分類され、発生または細胞分化において重要な役割をもつ因子も多い。

そのような転写因子としては、例えば、STAT1、STAT2、STAT3、GAS、NFAT、My c、AP1、CREB、NF κ B、E2F、Rb、p53、RUNX1、RUNX2、RUNX3、Nkx-2、CF2-11、
25 Skn-1、SRY、HFH-2、Oct-1、Oct-3 Sox-5、HNF-3b、PPAR γ などが挙げられるがそれらに限定されない。

本明細書において「ターミネーター」とは、通常遺伝子のタンパク質をコードする領域の下流に位置し、DNAがmRNAに転写される際の転写の終結、ポリA配列の付加に関与する配列をいう。ターミネーターは、mRNAの安定性に関与して遺伝子の発現量に影響を及ぼすことが知られている。

- 5 本明細書において「プロモーター」とは、遺伝子の転写の開始部位を決定し、またその頻度を直接的に調節するDNA上の領域をいい、通常RNAポリメラーゼが結合して転写を始める塩基配列である。したがって、本明細書においてある遺伝子のプロモーターの働きを有する部分を「プロモーター部分」という。プロモーターの領域は、通常、推定タンパク質コード領域の第1エキソンの上
- 10 流約2kbp以内の領域であることが多いので、DNA解析用ソフトウェアを用いてゲノム塩基配列中のタンパク質コード領域を予測すれば、プロモーター領域を推定することはできる。推定プロモーター領域は、構造遺伝子ごとに変動するが、通常構造遺伝子の上流にあるが、これらに限定されず、構造遺伝子の下流にもあり得る。好ましくは、推定プロモーター領域は、第一エキソン翻訳
- 15 開始点から上流約2kbp以内に存在する。プロモーターとしては、例えば、構成的プロモーター、特異的プロモーターおよび誘導性プロモーターなどが挙げられるがそれらに限定されない。

- 本明細書において「エンハンサー」とは、目的遺伝子の発現効率を高めるために用いられる配列をいう。そのようなエンハンサーは当該分野において周知
- 20 である。エンハンサーは複数個用いられ得るが1個用いられてもよいし、用いなくともよい。

本明細書において「サイレンサー」とは、遺伝子発現を抑制し静止する機能を有する配列をいう。本発明では、サイレンサーとしてはその機能を有する限り、どのようなものを用いてもよく、サイレンサーを用いなくともよい。

- 25 本明細書において「作動可能に連結された(る)」とは、所望の配列の発現(作動)がある転写翻訳調節配列(例えば、プロモーター、エンハンサー、サイレ

ンサーなど) または翻訳調節配列の制御下に配置されることをいう。プロモーターが遺伝子に作動可能に連結されるためには、通常、その遺伝子のすぐ上流にプロモーターが配置されるが、必ずしも隣接して配置される必要はない。

本明細書では、他のゲノム構造中構造遺伝子のフランキング配列およびエキソン以外のゲノム配列、ならびにエキソン中の配列もまた重要であり得る。例えば、上述の特定の名称が付された配列以外の構造遺伝子のフランキング配列もまた、「プロセス」という観点では、転写制御に関連することが充分予想される。従って、そのようなフランキング配列もまた、本明細書では、転写制御配列に含まれる。エキソン以外のゲノム配列およびエキソン中の配列もまた、「プロセス」という観点では、転写制御に関連することが充分予想される。従って、エキソン以外のゲノム配列およびエキソン中の配列もまた、本明細書では、転写制御配列に含まれる。

本明細書において「RNA i」とは、RNA interferenceの略称で、二本鎖RNA (dsRNAともいう) のようなRNA iを引き起こす因子を細胞に導入することにより、相同なmRNAが特異的に分解され、遺伝子産物の合成が抑制される現象およびそれに用いられる技術をいう。本明細書においてRNA iはまた、場合によっては、RNA iを引き起こす因子と同義に用いられ得る。

本明細書において「RNA iを引き起こす因子」とは、RNA iを引き起こすことができるような任意の因子をいう。本明細書において「遺伝子」に対して「RNA iを引き起こす因子」とは、その遺伝子に関するRNA iを引き起こし、RNA iがもたらす効果(例えば、その遺伝子の発現抑制など)が達成されることをいう。そのようなRNA iを引き起こす因子としては、例えば、標的遺伝子の核酸配列の一部に対して少なくとも約70%の相同性を有する配列またはストリンジントな条件下でハイブリダイズする配列を含む、少なくとも10ヌクレオチド長の二本鎖部分を含むRNAまたはその改変体が挙げら

れるがそれに限定されない。ここで、この因子は、好ましくは、3' 突出末端を含み、より好ましくは、3' 突出末端は、2ヌクレオチド長以上のDNA（例えば、2～4ヌクレオチド長のDNAであり得る。

理論に束縛されないが、RNAiが働く機構として考えられるものの一つとして、dsRNAのようなRNAiを引き起こす分子が細胞に導入されると、比較的長い（例えば、40塩基対以上）RNAの場合、ヘリカーゼドメインを持つダイサー（Dicer）と呼ばれるRNaseIII様のヌクレアーゼがATP存在下で、その分子を3' 末端から約20塩基対ずつ切り出し、短鎖dsRNA（siRNAとも呼ばれる）を生じる。本明細書において「siRNA」とは、short interfering RNAの略称であり、人工的に化学合成されるかまたは生化学的に合成されたものか、あるいは生物体内で合成されたものか、あるいは約40塩基以上の二本鎖RNAが体内で分解されてできた10塩基対以上の短鎖二本鎖RNAをいい、通常、5' -リン酸、3' -OHの構造を有しており、3' 末端は約2塩基突出している。このsiRNAに特異的なタンパク質が結合して、RISC（RNA-induced silencing complex）が形成される。この複合体は、siRNAと同じ配列を有するmRNAを認識して結合し、RNaseIII様の酵素活性によってsiRNAの中央部でmRNAを切断する。siRNAの配列と標的として切断するmRNAの配列の関係については、100%一致することが好ましい。しかし、siRNAの中央から外れた位置についての塩基の変異については、完全にRNAiによる切断活性がなくなるのではなく、部分的な活性が残存する。他方、siRNAの中央部の塩基の変異は影響が大きく、RNAiによるmRNAの切断活性が極度に低下する。このような性質を利用して、変異をもつmRNAについては、その変異を中央に配したsiRNAを合成し、細胞内に導入することで特異的に変異を含むmRNAだけを分解することができる。従って、本発明では、siRNAそのものをRNAiを引き起

こす因子として用いることができるし、s i RNAを生成するような因子（例えば、代表的に約40塩基以上のd s RNA）をそのような因子として用いることができる。

また、理論に束縛されることを希望しないが、s i RNAは、上記経路とは別に、s i RNAのアンチセンス鎖がmRNAに結合してRNA依存性RNAポリメラーゼ（R d R P）のプライマーとして作用し、d s RNAが合成され、このd s RNAが再びダイサーの基質となり、新たなs i RNAを生じて作用を増幅することも企図される。従って、本発明では、s i RNA自体およびs i RNAが生じるような因子もまた、有用である。実際に、昆虫などでは、例えば35分子のd s RNA分子が、1,000コピー以上ある細胞内のmRNAをほぼ完全に分解することから、s i RNA自体およびs i RNAが生じるような因子が有用であることが理解される。

本発明においてs i RNAと呼ばれる、約20塩基前後（例えば、代表的には約21～23塩基長）またはそれ未満の長さの二本鎖RNAを用いることができる。このようなs i RNAは、細胞に発現させることにより遺伝子発現を抑制し、そのs i RNAの標的となる病原遺伝子の発現を抑えることから、疾患の治療、予防、予後などに使用することができる。

本発明において用いられるs i RNAは、RNA iを引き起こすことができる限り、どのような形態を採っていてもよい。

別の実施形態において、本発明のRNA iを引き起こす因子は、3'末端に突出部を有する短いヘアピン構造（s h RNA; s h o r t h a i r p i n RNA）であり得る。本明細書において「s h RNA」とは、一本鎖RNAで部分的に回文状の塩基配列を含むことにより、分子内で二本鎖構造をとり、ヘアピンのような構造となる約20塩基対以上の分子をいう。そのようなs h RNAは、人工的に化学合成される。あるいは、そのようなs h RNAは、センス鎖およびアンチセンス鎖のDNA配列を逆向きに連結したヘアピン構造のD

NAをT7 RNAポリメラーゼによりインビトロでRNAを合成することによって生成することができる。理論に束縛されることは希望しないが、そのようなshRNAは、細胞内に導入された後、細胞内で約20塩基（代表的には、例えば、21塩基、22塩基、23塩基）の長さに分解され、siRNAと同様にRNAiを引き起こし、本発明の処置効果があることが理解されるべきである。このような効果は、昆虫、植物、動物（哺乳動物を含む）など広汎な生物において発揮されることが理解されるべきである。このように、shRNAは、siRNAと同様にRNAiを引き起こすことから、本発明の有効成分として用いることができる。shRNAはまた、好ましくは、3'突出末端を有し得る。二本鎖部分の長さは特に限定されないが、好ましくは約10ヌクレオチド長以上、より好ましくは約20ヌクレオチド長以上であり得る。ここで、3'突出末端は、好ましくはDNAであり得、より好ましくは少なくとも2ヌクレオチド長以上のDNAであり得、さらに好ましくは2～4ヌクレオチド長のDNAであり得る。

本発明において用いられるRNAiを引き起こす因子は、人工的に合成した（例えば、化学的または生化学的）ものでも、天然に存在するものでも用いることができ、この両者の間で本発明の効果に本質的な違いは生じない。化学的に合成したものでは、液体クロマトグラフィーなどにより精製をすることが好ましい。

本発明において用いられるRNAiを引き起こす因子は、インビトロで合成することもできる。この合成系において、T7 RNAポリメラーゼおよびT7プロモーターを用いて、鋳型DNAからアンチセンスおよびセンスのRNAを合成する。これらをインビトロでアニーリングした後、細胞に導入すると、上述のような機構を通じてRNAiが引き起こされ、本発明の効果が達成される。ここでは、例えば、リン酸カルシウム法でそのようなRNAを細胞内に導入することができる。

本発明のRNAiを引き起こす因子としてはまた、mRNAとハイブリダイズし得る一本鎖、あるいはそれらのすべての類似の核酸アナログのような因子も挙げられる。そのような因子もまた、本発明の処置方法および組成物において有用である。

- 5 本明細書において「経時的」とは、時間の経過に対して何らかの行為または現象を関連付けることをいう。

- 本明細書において「モニター」とは、少なくとも1つのパラメータ（例えば、転写に起因する標識信号など）を指標に、細胞の状態を観測することをいう。好ましくは、モニターは、検出機器または計測機器などの機器装置を用いて行
- 10 われる。より好ましくは、このような機器は、データを記録および／または処理するためにコンピュータに接続される。モニターは、固相支持体（例えば、アレイ、プレートなど）の画像データを得る工程を含み得る。

- 本明細書において「リアルタイム」とは、ある状態が、実質的に同時に別の形態で表示される（例えば、ディスプレイ上の画像としてあるいはデータ処理
- 15 されたグラフとして）ことをいう。そのような場合、リアルタイムは、データ処理にかかる時間だけタイムラグが生じるが、このようなタイムラグは、実質的に無視できる場合は、リアルタイムに包含される。そのようなタイムラグは、通常10秒以内であり、好ましくは1秒以内であり得るが、それらに限定されず、用途によっては、10秒を超える場合もまたリアルタイムと称することが
- 20 ある。

本明細書において細胞の状態の「判定」は、種々の方法を用いて行うことができる。そのような方法は、数理的処理（例えば、信号処理法、多変量解析など）、経験的処理、位相の変化などを包含するが、それらに限定されない。

- 本明細書において「差分」とは、あるプロファイルについて、コントロール
- 25 プロファイル（例えば、刺激のない場合）の値を差し引いて提示するような数理的処理をいう。

本明細書において「位相」とは、プロファイルについて言及されるとき、そのプロファイルが基準点（通常0とする）より増えているかまたは減っているかを判定し、それぞれ+または-として表現することおよびそれによる解析をいう。

- 5 本明細書においてプロファイル（例えば、経時プロファイル）と細胞の状態との「相関付け」とは、あるプロファイル（例えば、経時プロファイル）またはその変化の特定の情報を、細胞の状態に対応付けることをいい、そのような関係を相関関係という。従来、プロファイル（例えば、経時プロファイル）と細胞の状態との間の相関付けることは、実質的に不可能であり、そのような関係は知られていなかったことから、本発明において、そのような相関付けを行うことができることは格別の効果といえる。

- 10 本明細書において、相関付けは、少なくとも1つのプロファイルまたはその変動と、細胞、組織、臓器または生体の状態の変化（例えば、親和性、薬剤耐性）とを関連付けること、例えば、あるプロファイルまたはその変動と、細胞
- 15 の状態の少なくとも1つのパラメータとを定量的または定性的に対応付けることによって行うことができる。相関付けに使用される少なくとも1つのプロファイルの数は、相関付けが行うことができる限り少ない数であってよく、通常少なくとも1つ、好ましくは少なくとも2つ、より好ましくは少なくとも3つであり得るがそれらに限定されない。本発明では、少なくとも2つ、好ましくは
- 20 は少なくとも3つの少なくとも1つのプロファイルを特定することによって、ほぼすべての細胞を特定するに充分であることが判明した。そのような効果は、点で見ていた従来のプロファイリングまたはアッセイでは予測不可能であったことであり、本発明によって初めてもたらされた格別の効果といえる。このような場合、少なくとも1つのプロファイル（例えば、経時プロファイル）と、
- 25 細胞の状態とを対応付ける場合は、行列式を利用して数学的处理を行ってもよい。1つの好ましい実施形態において、相関付けに使用する少なくとも1つの

プロファイル（例えば、プロモーターに関するプロファイル）の数は少なくとも8つであることが有利であり得る。8種類の増減を観察することで、理論的には256種類の変化を対応付けることができ、生体を構成するといわれる300種類程度の細胞の種類の数をほぼ網羅することができるからである。その

5 意味において、そのような糖鎖構造の種類としては、少なくとも9種類、または少なくとも10種類観察対象に含めることがさらに有利であり得る。しかし、本発明の技術を用いれば、実質的には、任意の1つの生物学的因子を選択し、プロファイルデータを取得するだけで、その細胞の状態をかなり理解することが可能である。

- 10 関連付けの具体的方法としては、例えば、信号処理法（ウェーブレットなどによる）、多変量解析（クラスター解析など）などを利用する方法が挙げられるがそれらに限定されない。

関連付けは、あらかじめ行ってもよいが、細胞の判定ごとにコントロールを使用して行ってもよい。

- 15 本明細書において「外来因子」とは、ある細胞について言及するとき、その細胞において通常内部に存在しない因子（例えば、物質、エネルギーなど）をいう。本明細書において「因子」としては、意図する目的を達成することができる限りどのような物質または他の要素（例えば、電離線、放射線、光、音波などのエネルギー）でもあってもよい。そのような物質としては、例えば、タンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、ペプチド、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、核酸（例えば、cDNA、ゲノムDNAのようなDNA、またはmRNA、RNAiのようなRNAを含む）、ポリサッカリド、オリゴサッカリド、脂質、有機低分子（例えば、ホルモン、リガンド、情報伝達物質、有機低分子、コンビナトリアルケミストリで合成された分子、
- 20 医薬品として利用され得る低分子（例えば、低分子リガンドなど）など）、これらの複合分子が挙げられるがそれらに限定されない。外来因子は、1つ用いら

れてもよいが、2 つ以上の組み合わせを用いてもよい。本明細書において外来因子としては、温度変化、湿度変化、電磁波、電位差、可視光線、赤外線、紫外線、X線、化学物質、圧力、重力変化、ガス分圧および浸透圧などが挙げられるがそれらに限定されない。1 つの好ましい実施形態において、外来因子は、

5 生体分子または化学合成物であり得る。

本明細書において使用される用語「生体分子」とは、生体に関連する分子をいう。本明細書において「生体」とは、生物学的な有機体をいい、動物、植物、菌類、ウイルスなどを含むがそれらに限定されない。従って、本明細書では生体分子は、生体から抽出される分子を包含するが、それに限定されず、生体に

10 影響を与え得る分子であれば生体分子の定義に入る。したがって、コンビナトリアルケミストリで合成された分子、医薬品として利用され得る低分子（たとえば、低分子リガンドなど）もまた生体への効果が意図され得るかぎり、生体分子の定義に入る。そのような生体分子には、タンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、ペプチド、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ヌクレオ

15 チド、核酸（例えば、cDNA、ゲノムDNAのようなDNA、mRNAのようなRNAを含む）、ポリサッカライド、オリゴサッカライド、脂質、低分子（例えば、ホルモン、リガンド、情報伝達物質、有機低分子など）、これらの複合分子（糖脂質、糖タンパク質、リポタンパク質など）などが包含されるがそれらに限定されない。生体分子にはまた、細胞への導入が企図される限り、細胞自

20 体、組織の一部も包含され得る。通常、生体分子は、核酸、タンパク質、脂質、糖、プロテオリピッド、リポプロテイン、糖タンパク質およびプロテオグリカンなどであり得る。好ましくは、生体分子は、核酸（DNAまたはRNA）またはタンパク質を含む。別の好ましい実施形態では、生体分子は、核酸（例えば、ゲノムDNAまたはcDNA、あるいはPCRなどによって合成されたD

25 NA）である。他の好ましい実施形態では、生体分子はタンパク質であり得る。好ましくは、そのような生体分子は、ホルモンまたはサイトカインであり得る。

本明細書において「化学合成物」とは、通常の化学技術を用いて合成され得るすべての物質をいう。そのような合成技術は、当該分野において周知であり、当業者は、適宜そのような技術を組み合わせて化学合成物を製造することができる。

- 5 本明細書において使用される「サイトカイン」は、当該分野において用いられる最も広義の意味と同様に定義され、細胞から産生され同じまたは異なる細胞に作用する生理活性物質をいう。サイトカインは、一般にタンパク質またはポリペプチドであり、免疫応答の制御作用、内分泌系の調節、神経系の調節、抗腫瘍作用、抗ウイルス作用、細胞増殖の調節作用、細胞分化の調節作用などを有する。本明細書では、サイトカインはタンパク質形態または核酸形態あるいは他の形態であり得るが、実際に作用する時点においては、サイトカインは通常はタンパク質形態を意味する。本明細書において用いられる「増殖因子」
- 10 とは、細胞の増殖を促進または制御する物質をいう。増殖因子は、成長因子または発育因子ともいわれる。増殖因子は、細胞培養または組織培養において、
- 15 培地に添加されて血清高分子物質の作用を代替し得る。多くの増殖因子は、細胞の増殖以外に、分化状態の制御因子としても機能することが判明している。サイトカインには、代表的には、インターロイキン類、ケモカイン類、コロニー刺激因子のような造血因子、腫瘍壊死因子、インターフェロン類が含まれる。増殖因子としては、代表的には、血小板由来増殖因子（PDGF）、上皮増殖
- 20 因子（EGF）、線維芽細胞増殖因子（FGF）、肝実質細胞増殖因子（HGF）、血管内皮増殖因子（VEGF）のような増殖活性を有するものが挙げられる。

- 本明細書において使用される「ホルモン」とは、当該分野において通常用いられる最も広い意味と同じ意味で用いられ、動植物の特定の器官または細胞で
- 25 作られ、産出される部位からは隔たった器官にその特異的な生理作用をあらわす生理的有機化合物をいう。そのようなホルモンとしては、成長ホルモン、性

ホルモン、甲状腺ホルモンなどが挙げられるがそれらに限定されない。そのようなホルモンは、一部、上記サイトカインとそのさす範囲が重複し得る。

本明細書において「アクチン作用物質」とは、細胞内のアクチンに対して直接的または間接的に相互作用して、アクチンの形態または状態を変化させる機能を有する物質をいう。そのような物質としては、例えば、細胞外マトリクスタンパク質（例えば、フィブロネクチン、ビトロネクチン、ラミニンなど）が挙げられるがそれらに限定されない。そのようなアクチン作用物質には、以下のようなアッセイによって同定される物質が含まれる。本明細書において、アクチンへの相互作用の評価は、アクチン染色試薬（M o l e c u l a r P r o b e s , T e x a s R e d - X p h a l l o i d i n）などによりアクチンを可視化した後、顕鏡し、アクチン凝集や細胞伸展を観察することによってアクチンの凝集、再構成および／または細胞伸展速度の向上という現象が確認されることによって判定される。これらの判定は、定量的または定性的に行われ得る。このようなアクチン作用物質は、トランスフェクションの効率を上昇させるために本発明において利用される。本発明において用いられるアクチン作用物質が生体に由来する場合、その由来は何でもよく、例えば、ヒト、マウス、ウシなどの哺乳動物種があげられる。

本明細書において「細胞接着因子」もしくは「細胞接着分子」（C e l l a d h e s i o n m o l e c u l e）または「接着因子」もしくは「接着分子」とは、互換可能に使用され、2つ以上の細胞の互いの接近（細胞接着）または基質と細胞との間の接着を媒介する分子をいう。一般には、細胞と細胞の接着（細胞間接着）に関する分子（c e l l - c e l l a d h e s i o n m o l e c u l e）と、細胞と細胞外マトリックスとの接着（細胞－基質接着）に関与する分子（c e l l - s u b s t r a t e a d h e s i o n m o l e c u l e）に分けられる。本発明の組織片では、いずれの分子も有用であり、有効に使用することができる。従って、本明細書において細胞接着分子は、細

胞－基質接着の際の基質側のタンパク質を包含するが、本明細書では、細胞側のタンパク質（例えば、インテグリンなど）も包含され、タンパク質以外の分子であっても、細胞接着を媒介する限り、本明細書における細胞接着分子または細胞接着分子の概念に入る。

- 5 細胞間接着に関しては、カドヘリン、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する多くの分子（NCAM、L1、ICAM、ファシクリンII、IIIなど）、セレクトインなどが知られており、それぞれ独特な分子反応により細胞膜を結合させることも知られている。

- 他方、細胞－基質接着のために働く主要な細胞接着分子はインテグリンで、
- 10 細胞外マトリックスに含まれる種々のタンパク質を認識し結合する。これらの細胞接着分子はすべて細胞膜表面にあり、一種のレセプター（細胞接着受容体）とみなすこともできる。従って、細胞膜にあるこのようなレセプターもまた本発明の組織片において使用することができる。そのようなレセプターとしては、例えば、 α インテグリン、 β インテグリン、CD44、シンデカンおよびアグリ
- 15 リカンなどが挙げられるがそれに限定されない。細胞接着に関する技術は、上述のもののほかの知見も周知であり、例えば、細胞外マトリックス－臨床への応用－メディカルレビュー社に記載されている。

- ある分子が細胞接着分子であるかどうかは、生化学的定量（SDS-PAGE法、標識コラーゲン法）、免疫学的定量（酵素抗体法、蛍光抗体法、免疫組織
- 20 学的検討）PDR法、ハイブリダイゼーション法などのようなアッセイにおいて陽性となることを決定することにより判定することができる。このような細胞接着分子としては、コラーゲン、インテグリン、フィブロネクチン、ラミニン、ビトロネクチン、フィブリノゲン、免疫グロブリンスーパーファミリー（例えば、CD2、CD4、CD8、ICM1、ICAM2、VCAM1）、セレ
- 25 クチン、カドヘリンなどが挙げられるがそれに限定されない。このような細胞接着分子の多くは、細胞への接着と同時に細胞間相互作用による細胞活性化の

補助シグナルを細胞内に伝達する。そのような補助シグナルを細胞内に伝達することができるかどうかは、生化学的定量（SDS-PAGE法、標識コラーゲン法）、免疫学的定量（酵素抗体法、蛍光抗体法、免疫組織学的検討）PDR法、ハイブリダイゼーション法というアッセイにおいて陽性となることを決定

5 することにより判定することができる。

細胞接着分子としては、例えば、カドヘリン、免疫グロブリンスーパーファミリー分子（CD 2、LFA-3、ICAM-1、CD2、CD4、CD8、ICM1、ICAM2、VCAM1など）；インテグリンファミリー分子（LFA-1、Mac-1、gpIIbIIIa、p150、95、VLA1、V

10 LA2、VLA3、VLA4、VLA5、VLA6など）；セレクトインファミリー分子（L-セレクトイン、E-セレクトイン、P-セレクトインなど）などが挙げられるがそれらに限定されない。

本明細書において「細胞外マトリクスタンパク質」とは「細胞外マトリクス」のうちタンパク質であるものをいう。本明細書において「細胞外マトリクス」

15 (ECM) とは「細胞外基質」とも呼ばれ、当該分野において通常用いられる意味と同様の意味で用いられ、上皮細胞、非上皮細胞を問わず体細胞 (somatic cell) の間に存在する物質をいう。細胞外マトリクスは、組織の支持だけでなく、すべての体細胞の生存に必要な内部環境の構成に関与する。細胞外マトリクスは一般に、結合組織細胞から産生されるが、一部は上皮細胞

20 や内皮細胞のような基底膜を保有する細胞自身からも分泌される。線維成分とその間を満たす基質とに大別され、線維成分としては膠原線維および弾性線維がある。基質の基本構成成分はグリコサミノグリカン（酸性ムコ多糖）であり、その大部分は非コラーゲン性タンパクと結合してプロテオグリカン（酸性ムコ多糖-タンパク複合体）の高分子を形成する。このほかに、基底膜のラミニン、

25 弾性線維周囲のミクロフィブリル (microfibril)、線維、細胞表面のフィブロネクチンなどの糖タンパクも基質に含まれる。特殊に分化した組

織でも基本構造は同一で、例えば硝子軟骨では軟骨芽細胞によって特徴的に大量のプロテオグリカンを含む軟骨基質が産生され、骨では骨芽細胞によって石灰沈着が起こる骨基質が産生される。従って、本発明において用いられる細胞外マトリクスとしては、例えば、コラーゲン、エラスチン、プロテオグリカン、
5 グリコサミノグリカン、フィブロネクチン、ビトロネクチン、ラミニン、弾性繊維、膠原繊維などが挙げられるがそれに限定されない。

本明細書において「レセプター」とは、細胞上または核内などに存在し、外界からの因子または細胞内の因子に対する結合能を有し、その結合によりシグナルが伝達される分子をいう。レセプターは通常タンパク質の形態をとる。レ
10 セプターの結合パートナーは、通常リガンドという。

本明細書において「アゴニスト」とは、ある生体作用物質（リガンド）のレセプターに結合し、その物質のもつ作用と同じ（あるいは類似の）作用を現わすは因子をいう。

本明細書において「アンタゴニスト」とは、ある生体作用物質（リガンド）
15 のレセプターへの結合に拮抗的に働き、それ自身はそのレセプターを介した生理作用を現わさない因子をいう。拮抗薬、遮断剤（ブロッカー）、阻害剤（インヒビター）などもこのアンタゴニストに包含される。

（デバイス・固相支持体）

本明細書において「デバイス」とは、装置の一部または全部を構成すること
20 ができる部分をいい、支持体（好ましくは固相支持体）およびその支持体に担持されるべき標的物質などから構成される。そのようなデバイスとしては、チップ、アレイ、マイクロタイタープレート、細胞培養プレート、シャーレ、フィルム、ビーズなどが挙げられるがそれらに限定されない。

本明細書において使用される「支持体」は、生体分子のような物質を固定す
25 ることができる材料（material）をいう。支持体の材料としては、共有結合かまたは非共有結合のいずれかで、本発明において使用される生体分子

のような物質に結合する特性を有するかまたはそのような特性を有するように誘導体化され得る、任意の固体材料が挙げられる。

支持体として使用するためのそのような材料としては、固体表面を形成し得る任意の材料が使用され得るが、例えば、ガラス、シリカ、シリコン、セラミック、二酸化珪素、プラスチック、金属（合金も含まれる）、天然および合成のポリマー（例えば、ポリスチレン、セルロース、キトサン、デキストラン、およびナイロン）などが挙げられるがそれらに限定されない。支持体は、複数の異なる材料の層から形成されていてもよい。例えば、ガラス、石英ガラス、アルミナ、サファイア、フォスフェイト、酸化珪素、炭化珪素、窒化珪素などの無機絶縁材料を使用することができる。ポリエチレン、エチレン、ポリプロピレン、ポリイソブチレン、ポリエチレンテレフタレート、不飽和ポリエステル、含フッ素樹脂、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアルコール、ポリビニルアセタール、アクリル樹脂、ポリアクリロニトリル、ポリスチレン、アセタール樹脂、ポリカーボネート、ポリアミド、フェノール樹脂、ユリア樹脂、エポキシ樹脂、メラミン樹脂、スチレン・アクリロニトリル共重合体、アクリロニトリルブタジエンスチレン共重合体、シリコーン樹脂、ポリフェニレンオキサイド、ポリスルホンなどの有機材料を用いることができる。本発明においてはまた、ニトロセルロース膜、ナイロン膜、PVDF膜など、プロッティングに使用される膜を用いることもできる。支持体を構成する材料が固相である場合、本明細書において特に「固相支持体」という。本明細書において、プレート、マイクロウェルプレート、チップ、スライドガラス、フィルム、ビーズ、金属（表面）などの形態をとり得る。支持体はコーティングされていてもよく、コーティングされていなくてもよい。

本明細書において「液相」とは、当該分野において通常用いられる意味と同じ意味で用いられ、通常、溶液中での状態をいう。

本明細書において「固相」とは、当該分野において用いられる意味と同じ意

味で用いられ、通常、固体の状態をいう。本明細書において液体および固体を総合して流体ということがある。

本明細書において使用される「基板」とは、本発明のチップまたはアレイが、構築される材料（好ましくは固体）をいう。したがって、基板はプレートの概念に包含される。基板の材料としては、共有結合かまたは非共有結合のいずれかで、本発明において使用される生体分子に結合する特性を有するかまたはそのような特性を有するように誘導体化され得る、任意の固体材料が挙げられる。

プレートおよび基板として使用するためのそのような材料としては、固体表面を形成し得る任意の材料が使用され得るが、例えば、ガラス、シリカ、シリコン、セラミック、二酸化珪素、プラスチック、金属（合金も含まれる）、天然および合成のポリマー（例えば、ポリスチレン、セルロース、キトサン、デキストラン、およびナイロン）が挙げられるがそれらに限定されない。基板は、複数の異なる材料の層から形成されていてもよい。例えば、ガラス、石英ガラス、アルミナ、サファイア、フォスフェイト、炭化珪素、酸化珪素、窒化珪素などの無機絶縁材料を使用できる。また、ポリエチレン、エチレン、ポリプロピレン、ポリイソブチレン、ポリエチレンテレフタレート、不飽和ポリエステル、含フッ素樹脂、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアルコール、ポリビニルアセタール、アクリル樹脂、ポリアクリロニトリル、ポリスチレン、アセタール樹脂、ポリカーボネート、ポリアミド、フェノール樹脂、ユリア樹脂、エポキシ樹脂、メラミン樹脂、スチレン・アクリロニトリル共重合体、アクリロニトリルブタジエンスチレン共重合体、シリコーン樹脂、ポリフェニレンオキサイド、ポリスルホン等の有機材料を用いることができる。基板として好ましい材質は、測定機器などの種々のパラメータによって変動し、当業者は、上述のような種々の材料から適切なものを適宜選択することができる。トランスフェクションアレイのためには、スライドガラスが好ましい。好ましくは、そのような基材は、コーティングされ得る。

本明細書において「コーティング」とは、固相支持体または基板について用いられるとき、その固相支持体または基板の表面上にある物質の膜を形成させることおよびそのような膜をいう。コーティングは種々の目的で行われ、例えば、固相支持体および基板の品質向上（例えば、寿命の向上、耐酸性などの耐環境性の向上）、固相支持体または基板に結合されるべき物質の親和性の向上などを目的とすることが多い。そのようなコーティングのための物質としては、種々の物質が用いられ得、上述の固相支持体および基板自体に使用される物質のほか、DNA、RNA、タンパク質、脂質などの生体物質、ポリマー（例えば、ポリ-L-リジン、MAS（松浪硝子、岸和田、日本から入手可能）、疎水性フッ素樹脂）、シラン（APS（例えば、γ-アミノプロピルシラン））、金属（例えば、金など）が使用され得るがそれらに限定されない。そのような物質の選択は当業者の技術範囲内にあり、当該分野において周知の技術を用いて場合ごとに選択することができる。一つの好ましい実施形態では、そのようなコーティングは、ポリ-L-リジン、シラン、（例えば、エポキシシランまたはメルカプトシラン、APS（γ-アミノプロピルシラン））、MAS、疎水性フッ素樹脂、金のような金属を用いることが有利であり得る。このような物質は、細胞または細胞を含む物体（例えば、生体、臓器など）に適合する物質を用いることが好ましい。

本明細書において「チップ」または「マイクロチップ」は、互換可能に用いられ、多様の機能をもち、システムの一部となる超小型集積回路をいう。チップとしては、例えば、DNAチップ、プロテインチップなどが挙げられるがそれらに限定されない。

本明細書において「アレイ」とは、1以上（例えば、1000以上）の標的物質を含む組成物（例えば、DNA、タンパク質、トランスフェクト混合物）が整列されて配置されたパターンまたはパターンを有する基板（例えば、チップ）そのものをいう。アレイの中で、小さな基板（例えば、10×10mm上

など) 上にパターン化されているものはマイクロアレイというが、本明細書では、マイクロアレイとアレイとは互換可能に使用される。従って、上述の基板より大きなものにパターン化されたものでもマイクロアレイと呼ぶことがある。例えば、アレイはそれ自身固相表面または膜に固定されている所望のトランス

- 5 フェクト混合物のセットで構成される。アレイは好ましくは同一のまたは異なる抗体を少なくとも 10^2 個、より好ましくは少なくとも 10^3 個、およびさらに好ましくは少なくとも 10^4 個、さらにより好ましくは少なくとも 10^5 個を含む。これらの抗体は、好ましくは表面が 125×80 mm、より好ましくは 10×10 mm 上に配置される。形式としては、96 ウェルマイクロタイター
- 10 プレート、384 ウェルマイクロタイタープレートなどのマイクロタイタープレートの大きさのものから、スライドガラス程度の大きさのものが企図される。固定される標的物質を含む組成物は、1 種類であっても複数種類であってもよい。そのような種類の数は、1 個〜スポット数までの任意の数であり得る。例えば、約 10 種類、約 100 種類、約 500 種類、約 1000 種類の標的物質
- 15 を含む組成物が固定され得る。

- 基板のような固相表面または膜には、上述のように任意の数の標的物質（例えば、抗体のようなタンパク質）が配置され得るが、通常、基板 1 つあたり、 10^8 個の生体分子まで、他の実施形態において 10^7 個の生体分子まで、 10^6 個の生体分子まで、 10^5 個の生体分子まで、 10^4 個の生体分子まで、 10^3
- 20 個の生体分子まで、または 10^2 個の生体分子までの個の生体分子が配置され得るが、 10^8 個の生体分子を超える標的物質を含む組成物が配置されていてもよい。これらの場合において、基板の大きさはより小さいことが好ましい。特に、標的物質を含む組成物（例えば、抗体のようなタンパク質）のスポットの大きさは、単一の生体分子のサイズと同じ小さくあり得る（これは、 $1 - 2$ nm の桁であり得る）。最小限の基板の面積は、いくつかの場合において基板上の生体
- 25 分子の数によって決定される。本発明では、細胞への導入が企図される標的物

質を含む組成物は、通常、0.01mm～10mmのスポット状に共有結合あるいは物理的相互作用によって配列固定されている。

アレイ上には、生体分子の「スポット」が配置され得る。本明細書において「スポット」とは、標的物質を含む組成物の一定の集合をいう。本明細書において「スポッティング」とは、ある標的物質を含む組成物のスポットをある基板またはプレートに作製することをいう。スポッティングはどのような方法でも行うことができ、例えば、ピペッティングなどによって達成され得、あるいは自動装置で行うこともでき、そのような方法は当該分野において周知である。

本明細書において使用される用語「アドレス」とは、基板上のユニークな位置をいい、他のユニークな位置から弁別可能であり得るものをいう。アドレスは、そのアドレスを伴うスポットとの関連づけに適切であり、そしてすべての各々のアドレスにおける存在物が他のアドレスにおける存在物から識別され得る（例えば、光学的）、任意の形状を採り得る。アドレスを定める形は、例えば、円状、楕円状、正方形、長方形であり得るか、または不規則な形であり得る。したがって、「アドレス」は、抽象的な概念を示し、「スポット」は具体的な概念を示すために使用され得るが、両者を区別する必要がない場合、本明細書においては、「アドレス」と「スポット」とは互換的に使用され得る。

各々のアドレスを定めるサイズは、とりわけ、その基板の大きさ、特定の基板上のアドレスの数、標的物質を含む組成物の量および／または利用可能な試薬、微粒子のサイズおよびそのアレイが使用される任意の方法のために必要な解像度の程度に依存する。大きさは、例えば、1－2nmから数cmの範囲であり得るが、そのアレイの適用に一致した任意の大きさが可能である。

アドレスを定める空間配置および形状は、そのマイクロアレイが使用される特定の適用に適合するように設計される。アドレスは、密に配置され得、広汎に分散され得るか、または特定の型の分析物に適切な所望のパターンへとサブグループ化され得る。

マイクロアレイについては、ゲノム機能研究プロトコール（実験医学別冊 ポ
ストゲノム時代の実験講座1）、ゲノム医科学とこれからのゲノム医療（実験医
学増刊）などに広く概説されている。

5 マイクロアレイから得られるデータは膨大であることから、クローンとスポ
ットとの対応の管理、データ解析などを行うためのデータ解析ソフトウェアが
重要である。そのようなソフトウェアとしては、各種検出システムに付属のソ
フトウェアが利用可能である（Ermolaeva Oら（1998）Nat.
Genet. 20:19-23）。また、データベースのフォーマットとしては、
10 例えば、Affymetrixが提唱しているGATC（genetic a
nalysis technology consortium）と呼ばれる
形式が挙げられる。

微細加工については、例えば、Campbell, S. A. (1996). T
he Science and Engineering of Microe
lectronic Fabrication, Oxford Univer
15 sity Press; Zaut, P. V. (1996). Micromicr
oarray Fabrication: a Practical Guid
e to Semiconductor Processing, Semic
onductor Services; Madou, M. J. (1997). F
undamentals of Microfabrication, CRC
20 1 5 Press; Rai-Choudhury, P. (1997). Han
dbook of Microlithography, Micromach
ining, & Microfabrication: Microlitho
graphyなどに記載されており、これらは本明細書において関連する部分
が参考として援用される。

25 （検出）

本発明の細胞分析または判定方法では、細胞またはそれに相互作用する物質

- に起因する情報を検出することができる限り、種々の検出方法および検出手段を用いることができる。そのような検出方法および検出手段としては、例えば、目視、光学顕微鏡、共焦点顕微鏡、蛍光顕微鏡、レーザー光源を用いた読取装置、表面プラズモン共鳴（SPR）イメージング、電気信号、化学的または生
- 5 化学的マーカーのいずれかあるいは複数種を用いる方法および手段を挙げることができるがそれらに限定されない。そのような検出装置としてはまた、蛍光分析装置、分光光度計、シンチレーションカウンタ、CCD、ルミノメータなども挙げられるがそれらに限定されず、生体分子を検出することができる手段であればどのようなものでもよい。
- 10 本明細書において「マーカー」とは、目的とする物質または状態についてレベルまたは頻度を反映する生物学的因子をいう。そのようなマーカーとしては、例えば、遺伝子をコードする核酸、遺伝子産物、代謝産物、レセプター、リガンド、抗体などが挙げられるがそれらに限定されない。
- したがって、本明細書において細胞の状態に関連するマーカーとは、転写制
- 15 御因子のほか、細胞の状態を示す細胞内因子（例えば、遺伝子をコードする核酸、遺伝子産物（例えば、mRNA、タンパク質、翻訳後修飾タンパク質）、代謝産物、レセプターなど）に対して相互作用する因子（例えば、リガンド、抗体など、相補的な核酸）などが挙げられるがそれらに限定されない。本発明では、このようなマーカーについて経時プロファイルを生成して解析することも
- 20 包含する。そのようなマーカーは、好ましくは、目的とする因子に対して特異的に相互作用することが有利であり得る。そのような特異性は、例えば、類似の分子よりも目的の分子に対する相互作用の程度が有意に高い性質を言う。本発明では、好ましくは、そのようなマーカーは、細胞内部に存在するが、細胞外のものであってもよい。
- 25 本明細書において「標識」とは、目的となる分子または物質を他から識別するための存在（たとえば、物質、エネルギー、電磁波など）をいう。そのよう

な標識方法としては、R I（ラジオアイソトープ）法、蛍光法、ビオチン法、化学発光法等を挙げることができる。上記の核酸断片および相補性を示すオリゴヌクレオチドを何れも蛍光法によって標識する場合には、蛍光発光極大波長が互いに異なる蛍光物質によって標識を行う。蛍光発光極大波長の差は、10 nm以上であることが好ましい。蛍光物質としては、核酸の塩基部分と結合できるものであれば何れも用いることができるが、シアニン色素（例えば、Cy Dye™ シリーズのCy 3、Cy 5等）、ローダミン6 G試薬、N-アセトキシ-N2-アセチルアミノフルオレン（AAF）、AAIF（AAFのヨウ素誘導体）等を使用することが好ましい。蛍光発光極大波長の差が10 nm以上である蛍光物質としては、例えば、Cy 5とローダミン6 G試薬との組み合わせ、Cy 3とフルオレセインとの組み合わせ、ローダミン6 G試薬とフルオレセインとの組み合わせ等を挙げることができる。本発明では、このような標識を利用して、使用される検出手段に検出され得るように目的とする対象を改変することができる。そのような改変は、当該分野において公知であり、当業者は標識および目的とする対象に応じて適宜そのような方法を実施することができる。

本明細書において「相互作用」には、疎水性相互作用、親水性相互作用、水素結合、ファンデルワールス力、イオン性相互作用、非イオン性相互作用、静電的相互作用などが挙げられるがそれらに限定されない。

本明細書において「相互作用のレベル」とは、2つの物質（細胞などを含む）の間の相互作用について言及する場合、その2つの物質の間の相互作用の程度または頻度をいう。そのような相互作用のレベルは、当該分野において周知の方法によって測定することができる。そのような方法としては、例えば、実際に相互作用し固定状態にある細胞の数を、例えば、光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、位相差顕微鏡などを利用して、直接または間接的に（例えば、反射光強度）計数すること、細胞に特異的なマーカー、抗体、蛍光標識などで染色しその強度を測定することなどが挙げられるがそれらに限定されない。これらのレベルは、

マーカから直接または標識を介して間接的に表示することができる。このような測定値から、例えば、あるスポットにおいて実際に転写または発現する遺伝子の個数または頻度を算出することができる。

(提示および表示)

- 5 本明細書において「表示」(ディスプレイ) および「提示」とは、互換可能に使用され、本発明の方法に従って得られたプロファイルまたはそれに由来する情報を直接または間接的にあるいは情報処理をした形態で具現化することをいう。そのような表示の形態としては、グラフ、写真、表、アニメーションなど種々の方法があり、限定されない。そのような技術としては、例えば、MET
- 10 HODS IN CELL BIOLOGY, VOL. 56, ed. 1998, pp: 185-215、A High-Resolution Multimode Digital Microscope System (Sluder & Wolf, Salmon) において、顕微鏡を自動化し、カメラを制御するためのアプリケーションソフトウェアとともに、自動光学顕
- 15 微鏡の顕微鏡、カメラ、Z軸フォーカス装置を含む、ハードウェアシステムの設計について議論されており、本発明において利用することができる。カメラによるイメージ取得は、Inoue and Spring, Video M
- 20 iroscopy, 2d. Edition, 1997に詳細に記載されており、本明細書において参考文献として援用される。
- 25 リアルタイムの表示および提示もまた、当該分野において周知の技術を用いて行うことができる。例えば、全てのイメージが取得され、半永久的メモリに格納された後、あるいはイメージの取得と実質的に同時に、適切なアプリケーションソフトウェアで処理し、処理されたデータを得ることができる。例えば、取得されたデータを処理する方法は、画像が中断されないシーケンスをプレイ
- バックする、あるいは、リアルタイムで表示する、焦点面における変化および連続として、照射光を示す「ムービー」として表示することができる。

別の実施形態では、測定および表示用アプリケーションは、通常刺激付与の条件や得られた検出信号の記録条件を設定するためのソフトウェアを含んでいる。この測定および表示用アプリケーションによって、コンピュータは細胞に刺激を付与する手段と、細胞から検出された信号を処理する手段とを構成する
5 だけでなく、光学観察手段（S I Tカメラ及び画像ファイル装置）および／または細胞培養手段の制御を行うこともできる。

パラメータ設定画面では、キーボード、タッチパネルまたはマウスなどを用いて画面上で刺激条件を入力することにより、所望の複雑な刺激条件の設定が可能である。その他、細胞培養の温度、p Hなどの諸条件の設定をキーボード、
10 マウスなどを用いて行うことができる。

表示画面では、細胞から検出されたプロファイルまたはそれに由来する情報をリアルタイムでまたは記録後に表示する。また、記録された別のプロファイルまたはそれに由来する情報を細胞の顕微鏡像に重ねて表示することもできる。記録情報の表示とともに、記録時の測定パラメータ（刺激条件、記録条件、表
15 示条件、処理条件、細胞の諸条件、温度、p H等）もまたリアルタイムで表示することができる。温度またはp Hが許容範囲を外れたときの警報機能も備えられていてもよい。

データ解析画面では、種々の数理解析、フーリエ変換、クラスター解析、F F T解析、コヒーレンス解析、コリレーション解析などの条件を設定することが可能である。一時的なプロファイル表示機能、トポグラフィー表示機能、も
20 備えていてもよい。これらの解析結果は、記録媒体に保存されている顕微鏡像に重ねて表示することができる。

（遺伝子導入）

本明細書において、核酸分子を細胞に導入する技術は、どのような技術でも
25 よく、例えば、形質転換、形質導入、トランスフェクションなどが挙げられる。本明細書では、トランスフェクションが好ましい。

本明細書において「トランスフェクション」とは、遺伝子DNA、プラスミドDNA、ウイルスDNA、ウイルスRNAなどを、ウイルス粒子などの形をとらない裸に近い状態で細胞の培養、または細胞の懸濁液に加えて細胞に取り込ませて遺伝子導入または感染を行うことをいう。通常トランスフェクションによって導入された遺伝子は、一過的に細胞において発現するが、永続的に取り込まれる場合もある。

そのような核酸分子の導入技術は、当該分野において周知であり、かつ、慣用されるものであり、例えば、Ausubel F. A. ら編 (1988)、*Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley, New York, NY; Sambrook J ら (1987) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Ed. およびその第三版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY、別冊実験医学「遺伝子導入&発現解析実験法」羊土社、1997などに記載される。遺伝子の導入は、ノーザンブロット、ウェスタンブロット分析のような本明細書に記載される方法または他の周知慣用技術を用いて確認することができる。

本明細書において遺伝子操作について言及する場合、「ベクター」または「組み換えベクター」とは、目的のポリヌクレオチド配列を目的の細胞へと移入させることができるベクターをいう。そのようなベクターとしては、原核細胞、酵母、動物細胞、植物細胞、昆虫細胞、動物個体および植物個体などの宿主細胞において自立複製が可能、または染色体中への組込みが可能で、本発明のポリヌクレオチドの転写に適した位置にプロモーターを含有しているものが例示される。ベクターのうち、クローニングに適したベクターを「クローニングベクター」という。そのようなクローニングベクターは通常、制限酵素部位を複数含むマルチプルクローニング部位を含む。そのような制限酵素部位およびマ

ルチブルクローニング部位は、当該分野において周知であり、当業者は、目的に合わせて適宜選択して使用することができる。そのような技術は、本明細書に記載される文献（例えば、Sambrookら、前出）に記載されている。

- 5 本明細書において「発現ベクター」とは、構造遺伝子およびその発現を調節するプロモーターに加えて種々の調節エレメントが宿主の細胞中で作動し得る状態で連結されている核酸配列をいう。調節エレメントは、好ましくは、ターミネーター、薬剤耐性遺伝子のような選択マーカーおよび、エンハンサーを含み得る。生物（例えば、動物）の発現ベクターのタイプおよび使用される調節エレメントの種類が、宿主細胞に応じて変わり得ることは、当業者に周知の事項である。

原核細胞に対する組換えベクターとしては、p cDNA3 (+)、p Blue script-SK (+/-)、p GEM-T、p EF-BOS、p EGFP、p HAT、p UC18、p FT-DESTTM42 GATEWAY (Invitrogen) などが例示される。

- 15 動物細胞に対する組換えベクターとしては、p cDNA1/Amp、p cDNA1、p CDM8（いずれもフナコシより市販）、p AGE107 [特開平3-229 (Invitrogen)、p AGE103 [J. Biochem., 101, 1307 (1987)]、p AMo、p AMoA [J. Biol. Chem., 268, 22782-22787 (1993)]、マウス幹細胞ウイルス (Murine Stem Cell Virus) (MSCV) に基づいたレトロウイルス型発現ベクター、p EF-BOS、p EGFPなどが例示される。

植物細胞に対する組換えベクターとしては、p PCV ICE n4HPT、p CGN1548、p CGN1549、p BI221、p BI121などが挙げられるがそれらに限定されない。

- 25 また、ベクターの導入方法としては、細胞にDNAを導入する上述のような方法であればいずれも用いることができ、例えば、トランスフェクション、形

質導入、形質転換など（例えば、リン酸カルシウム法、リポソーム法、DEAEデキストラン法、エレクトロポレーション法、パーティクルガン（遺伝子銃）を用いる方法など）、リポフェクション法、スフェロプラスト法 [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 1929 (1978)], 酢酸リチウム法 [J. Bacteriol., 153, 163 (1983)], Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 1929 (1978) 記載の方法が挙げられる。

本明細書において「作動可能に連結された（る）」とは、所望の配列の発現（作動）がある転写翻訳調節配列（例えば、プロモーター、エンハンサーなど）または翻訳調節配列の制御下に配置されることをいう。プロモーターが遺伝子に作動可能に連結されるためには、通常、その遺伝子のすぐ上流にプロモーターが配置されるが、必ずしも隣接して配置される必要はない。

本明細書において「遺伝子導入試薬」とは、遺伝子導入方法において、導入効率を促進するために用いられる試薬をいう。そのような遺伝子導入試薬としては、例えば、カチオン性高分子、カチオン性脂質、ポリアミン系試薬、ポリイミン系試薬、リン酸カルシウムなどが挙げられるがそれらに限定されない。トランスフェクションの際に利用される試薬の具体例としては、種々なソースから市販されている試薬が挙げられ、例えば、Effectene Transfection Reagent (cat. no. 301425, Qiagen, CA), TransFast™ Transfection Reagent (E2431, Promega, WI), Tfx™-20 Reagent (E2391, Promega, WI), SuperFect Transfection Reagent (301305, Qiagen, CA), PolyFect Transfection Reagent (301105, Qiagen, CA), LipofectAMINE 2000 Reagent (11668-019, Invitrogen corporation,

CA), JetPEI (×4) conc. (101-30, Polyplystransfection, France) および ExGen 500 (R0511, Fermentas Inc., MD) などが挙げられるがそれらに限定されない。

- 5 本明細書において遺伝子発現（たとえば、mRNA発現、ポリペプチド発現）の「検出」または「定量」は、例えば、mRNAの測定および免疫学的測定方法を含む適切な方法を用いて達成され得る。分子生物学的測定方法としては、例えば、ノーザンブロット法、ドットブロット法またはPCR法などが例示される。免疫学的測定方法としては、例えば、方法としては、マイクロタイター
- 10 プレートを用いるELISA法、RIA法、蛍光抗体法、ウェスタンブロット法、免疫組織染色法などが例示される。また、定量方法としては、ELISA法またはRIA法などが例示される。アレイ（例えば、DNAアレイ、プロテインアレイ）を用いた遺伝子解析方法によっても行われ得る。DNAアレイについては、（秀潤社編、細胞工学別冊「DNAマイクロアレイと最新PCR法」）
- 15 に広く概説されている。プロテインアレイについては、Nat Genet. 2002 Dec; 32 Suppl: 526-32に詳述されている。遺伝子発現の分析法としては、上述に加えて、RT-PCR、RACE法、SSCP法、免疫沈降法、two-hybridシステム、インビトロ翻訳などが挙げられるがそれらに限定されない。そのようなさらなる分析方法は、例えば、
- 20 ゲノム解析実験法・中村祐輔ラボ・マニュアル、編集・中村祐輔 羊土社（2002）などに記載されており、本明細書においてそれらの記載はすべて参考として援用される。

- 「発現量」とは、目的の細胞などにおいて、ポリペプチドまたはmRNAが発現される量をいう。そのような発現量としては、本発明の抗体を用いてELISA法、RIA法、蛍光抗体法、ウェスタンブロット法、免疫組織染色法な
- 25 どの免疫学的測定方法を含む任意の適切な方法により評価される本発明ポリペ

プチドのタンパク質レベルでの発現量、またはノーザンブロット法、ドットブロット法、PCR法などの分子生物学的測定方法を含む任意の適切な方法により評価される本発明のポリペプチドのmRNAレベルでの発現量が挙げられる。

- 「発現量の変化」とは、上記免疫学的測定方法または分子生物学的測定方法を含む任意の適切な方法により評価される本発明のポリペプチドのタンパク質レベルまたはmRNAレベルでの発現量が増加あるいは減少することを意味する。

(スクリーニング)

- 本明細書において「スクリーニング」とは、目的とするある特定の性質をもつ生物または物質などの標的を、特定の操作／評価方法で多数を含む集団の中から選抜することをいう。スクリーニングのために、本発明の方法またはシステムを使用することができる。

- 本明細書において、免疫反応を利用してスクリーニングを行うことを、「免疫表現型分類 (immunophenotyping)」ともいう。この場合、本発明の抗体または単鎖抗体は、細胞株および生物学的サンプルの免疫表現型分類のために利用され得る。本発明の遺伝子の転写産物・翻訳産物は、細胞特異的マーカーとして、あるいはより詳細には、特定の細胞型の分化および／または成熟の種々の段階で示差的に発現される細胞マーカーとして有用である。特異的エピトープ、またはエピトープの組み合わせに対して指向されるモノクローナル抗体は、マーカーを発現する細胞集団のスクリーニングを可能とする。
- 種々の技術が、マーカーを発現する細胞集団をスクリーニングするために、モノクローナル抗体を用いて利用され得、そしてその技術には、抗体でコーティングされた磁気ビーズを用いる磁気分離、固体マトリクス（すなわち、プレート）に付着した抗体を用いる「パニング (panning)」、ならびにフローサイトメトリーが挙げられる（例えば、米国特許第5,985,660号；およびMorrissonら、Cell, 96:737-49 (1999)を参照)。

これらの技術は、ヒト臍帯血において見出され得るような細胞増殖および／

または分化を起こし得るかまたは未分化状態への改変処置を行ったような細胞集団のような、未分化の細胞（例えば、胚性幹細胞、組織幹細胞など）を含む細胞集団についてスクリーニングするために利用され得る。

（診断）

- 5 本明細書において「診断」とは、被検体における疾患、障害、状態などに関連する種々のパラメータを同定し、そのような疾患、障害、状態の現状を判定することをいう。本発明の方法、装置、システムを用いることによって、糖鎖構造を分析し、薬剤耐性レベルと相関付けることができ、そのような情報を用いて、被検体における疾患、障害、状態、投与すべき処置または予防のための
- 10 処方物または方法などの種々のパラメータを選定することができる。

本発明の診断方法は、原則として、身体から出たものを利用することができることから、医師などの医療従事者の手を離れて実施することができることから、産業上有用である。

（治療）

- 15 本明細書において「治療」とは、ある疾患または障害について、そのような状態になった場合に、そのような疾患または障害の悪化を防止、好ましくは、現状維持、より好ましくは、軽減、さらに好ましくは消長させることをいう。

本明細書において「被検体」とは、本発明の処置が適用される生物をいい、「患者」ともいわれる。患者または被検体は好ましくは、ヒトであり得る。

- 20 本明細書において「病因」とは、被検体の疾患、障害または状態（本明細書において、総称して「病変」ともいい、植物では病害ともいう）に関連する因子をいい、例えば、原因となる病原物質（病原因子）、病原体、病変細胞、病原ウイルスなどが挙げられるがそれらに限定されない。

- 25 本発明が対象とする「疾患」は、病原遺伝子が関連する任意の疾患であり得る。そのような疾患としては、癌、ウイルスまたは細菌による感染症、アレルギー、高血圧、高脂血症、糖尿病、心臓病、脳梗塞、痴呆症、肥満、動脈硬化

性疾患、不妊症、精神神経疾患、白内障、早老症、紫外線放射線過敏症などが挙げられるがそれらに限定されない。

本発明が対象とする「障害」は、病原遺伝子が関連する任意の障害であり得る。

- 5 そのような疾患、障害または状態の具体例としては、例えば、循環器系疾患（貧血（例えば、再生不良性貧血（特に重症再生不良性貧血）、腎性貧血、がん性貧血、二次性貧血、不応性貧血など）、がんまたは腫瘍（例えば、白血病、多発性骨髄腫）など）；神経系疾患（痴呆症、脳卒中およびその後遺症、脳腫瘍、脊髄損傷など）；免疫系疾患（T細胞欠損症、白血病など）；運動器・骨格系疾患（骨折、骨粗鬆症、関節の脱臼、亜脱臼、捻挫、靱帯損傷、変形性関節症、骨肉腫、ユーイング肉腫、骨形成不全症、骨軟骨異形成症など）；皮膚系疾患（無毛症、黒色腫、皮膚悪性リンパ腫、血管肉腫、組織球症、水疱症、膿疱症、皮膚炎、湿疹など）；内分泌系疾患（視床下部・下垂体疾患、甲状腺疾患、副甲状腺（上皮小体）疾患、副腎皮質・髄質疾患、糖代謝異常、脂質代謝異常、タンパク質代謝異常、核酸代謝異常、先天性代謝異常（フェニルケトン尿症、ガラクトース血症、ホモシスチン尿症、メープルシロップ尿症）、無アルブミン血症、アスコルビン酸合成能欠如、高ビリルビン血症、高ビリルビン尿症、カリクレイン欠損、肥満細胞欠損、尿崩症、バソプレッシン分泌異常、侏儒症、ウオルマン病（酸リパーゼ（A c i d l i p a s e）欠損症）、ムコ多糖症V I
- 10 型など）；呼吸器系疾患（肺疾患（例えば、肺炎、肺がんなど）、気管支疾患、肺がん、気管支がんなど）；消化器系疾患（食道疾患（たとえば、食道がん）、胃・十二指腸疾患（たとえば、胃がん、十二指腸がん）、小腸疾患・大腸疾患（たとえば、大腸ポリープ、結腸がん、直腸がんなど）、胆道疾患、肝臓疾患（たとえば、肝硬変、肝炎（A型、B型、C型、D型、E型など）、劇症肝炎、慢性肝炎、原発性肝がん、アルコール性肝障害、薬物性肝障害）、膵臓疾患（急性膵炎、慢性膵炎、膵臓がん、嚢胞性膵疾患）、腹膜・腹壁・横隔膜疾患（ヘルニアなど）、
- 15 20 25

- ヒルシュスプラング病など)；泌尿器系疾患（腎疾患（腎不全、原発性糸球体疾患、腎血管障害、尿細管機能異常、間質性腎疾患、全身性疾患による腎障害、腎がんなど）、膀胱疾患（膀胱炎、膀胱がんなど）など）；生殖器系疾患（男性生殖器疾患（男性不妊、前立腺肥大症、前立腺がん、精巣がんなど）、女性生殖器疾患（女性不妊、卵巣機能障害、子宮筋腫、子宮腺筋症、子宮がん、子宮内膜症、卵巣がん、絨毛性疾患など）など）；循環器系疾患（心不全、狭心症、心筋梗塞、不整脈、弁膜症、心筋・心膜疾患、先天性心疾患（たとえば、心房中隔欠損、心室中隔欠損、動脈管開存、ファロー四徴）、動脈疾患（たとえば、動脈硬化、動脈瘤）、静脈疾患（たとえば、静脈瘤）、リンパ管疾患（たとえば、リンパ浮腫）など）などが挙げられるがそれらに限定されない。

本明細書において「がん」または「癌」は、互換可能に用いられ、異型性が強く、増殖が正常細胞より速く、周囲組織に破壊性に浸潤し得あるいは転移をおこし得る悪性腫瘍またはそのような悪性腫瘍が存在する状態をいう。本発明においては、がんは固形がんおよび造血器腫瘍を含むがそれらに限定されない。

- 15 本明細書において「固形がん」は、固形の形状があるがんをいい、白血病などの造血器腫瘍とは対峙する概念である。そのような固形がんとしては、例えば、乳がん、肝がん、胃がん、肺がん、頭頸部がん、子宮頸部がん、前立腺がん、網膜芽細胞腫、悪性リンパ腫、食道がん、脳腫瘍、骨腫瘍が挙げられるがそれらに限定されない。

- 20 本明細書において「がん治療」は、抗がん剤（例えば、化学療法剤、放射線治療など）を投与することによって行われるか、または外科的に除去などをする外科的治療を包含する。

本明細書において用いられる化学療法剤は、当該分野において周知であり、抗がん剤マニュアル第2版 塚越茂他編 中外医学社；Pharmacology；Lippincott Williams & Wilkins, Inc. に記載されている。そのような化学療法剤は、例えば、以下が挙げられ

25

るがそれに限定されない：1) アルキル化剤 (DNA, タンパク質などの細胞構成成分をアルキル化して細胞毒性を示す。例えば、シクロホスファミド、ブスルファン、チオテパ、ダカルバジンが挙げられるがそれらに限定されない)；2) 代謝拮抗剤 (おもに核酸の合成を阻害する薬剤 (例えば、葉酸代謝拮抗剤としてメトトレキサートなど、プリン代謝拮抗剤として6-メルカプトプリンなど、ピリミジン代謝拮抗剤としてフルオロウラシル (5-FU) など)；3) DNAトポイソメラーゼ阻害剤 (例えば、カンプトテシン、エトポシド (それぞれトポイソメラーゼ I、II を阻害する))；4) チューブリン作用薬 (微小管形成を阻害し、細胞分裂を抑制する。ビンブラスチン、ビンクリスチンなど)；5) 白金化合物 (DNAおよびタンパク質との結合による細胞毒性を示す。シスプラチン、カルボプラチンなど)；6) 抗がん抗生物質 (DNAと結合し、DNA合成、RNA合成を阻害する。アドリアマイシン、ダウノルビシン、マイトマイシンC、ブレオマイシンなど)；7) ホルモン剤 (乳がん、子宮がん、前立腺がんなどホルモン依存性のがんに適応。タモキシフェン、リユープロレリン (LH-RH) など)；8) 生物製剤 (アスパラギン要求性血液悪性腫瘍に対して有効なアスパラギナーゼ、直接的な抗腫瘍作用と免疫増強による間接作用を示すインターフェロンなどがある)；9) 免疫賦活剤 (免疫応答能を増強し、間接的に抗腫瘍活性を示す。シイタケ由来の多糖体であるレンチナン、微生物由来のペプチドであるベスタチンなど)。

本明細書において「抗がん剤」とは、がん (腫瘍) 細胞の増殖を選択的に抑制し、がんの薬剤および放射線治療の両方を包含する。そのような抗がん剤は当該分野において周知であり、例えば、抗がん剤マニュアル第2版 塚越茂他編 中外医学社；Pharmacology；Lippincott Williams & Wilkins, Inc. に記載されている。

本明細書において「放射線療法」または「放射線治療」とは、互換可能に使用され、電離放射線または放射性物質を利用した疾患の治療をいう。代表的な

放射線療法としては、X線、γ線、電子線、陽子線、重粒子線、中性子捕捉療法が挙げられるがそれに限定されない。好ましい放射線療法としては、重粒子線が挙げられる。重粒子線を用いた療法は装置が大きく一般的でないことがある。そのような放射線療法は当該分野において周知であり、例えば、放射線検査と治療の基礎；放射線治療と集学的治療：邵啓全（滋賀医大 放射線）：総合消化器ケア 6巻 6号 Page 79-89, 6-7（2002.02）に記載されている。本発明において同定される薬剤耐性は、通常化学療法が想定されるが、放射線療法による耐性もまたプロフィールと関連付けられることから、本明細書では、放射線療法は薬剤の概念の中に入る。

- 10 本明細書において「薬学的に受容可能なキャリア」は、医薬または動物薬のような農薬を製造するときに使用される物質であり、有効成分に有害な影響を与えないものをいう。そのような薬学的に受容可能なキャリアとしては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：抗酸化剤、保存剤、着色料、風味料、および希釈剤、乳化剤、懸濁化剤、溶媒、フィラー、増量剤、緩衝剤、
- 15 送達ビヒクル、希釈剤、賦形剤および／または農学的もしくは薬学的アジュバント。

- 本発明の処置方法において使用される薬剤の種類および量は、本発明の方法によって得られた情報（例えば、薬剤耐性レベルに関する情報）を元に、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、投与
- 20 される被検体の部位の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる。本発明の処置方法を被検体（または患者）に対して施す頻度もまた、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、および治療経過などを考慮して、当業者が容易に決定することができる。薬剤を投与する頻度あるいは薬剤耐性をモニタリングする頻度としては、
- 25 例えば、毎日一数ヶ月に1回（例えば、1週間に1回-1ヶ月に1回）の投与が挙げられる。1週間-1ヶ月に1回の投与を、経過を見ながら施すことが好

ましい。

本明細書において「指示書」は、本発明のテイラーメイド治療方法などを医師、患者など投与を行う人に対して記載したものである。この指示書は、本発明の医薬などを例えば、放射線治療直後または直前（例えば、24時間以内など）に投与することを指示する文言が記載されている。この指示書は、本発明が実施される国の監督官庁（例えば、日本であれば厚生労働省、米国であれば食品医薬品局（FDA）など）が規定した様式に従って作成され、その監督官庁により承認を受けた旨が明記される。指示書は、いわゆる添付文書（package insert）であり、通常は紙媒体で提供されるが、それに限定されず、例えば、電子媒体（例えば、インターネットで提供されるホームページ、電子メール）のような形態でも提供され得る。

必要に応じて、本発明の治療では、2種類以上の薬剤が使用され得る。2種類以上の薬剤を使用する場合、類似の性質または由来の物質を使用してもよく、異なる性質または由来の薬剤を使用してもよい。このような2種類以上の薬剤を投与する方法のための薬剤耐性レベルに関する情報も、本発明の方法によって入手することができる。

本発明ではまた、得られた薬剤耐性に関する情報を元に、遺伝子治療を施すことも可能である。遺伝子治療とは、発現されたか、または発現可能な核酸の、被験体への投与により行われる治療をいう。本発明のこの実施形態において、核酸は、それらのコードされたタンパク質を産生し、そのタンパク質は治療効果を媒介する。

本発明では、いったん類似の種類（例えば、ヒトに対するマウスなど）の生物に関し、ある特定のプロファイルの分析結果と、細胞の状態とが相関付けられた場合、対応するプロファイルの分析結果と、細胞の状態とが相関付けることができることは、当業者は容易に理解する。そのような事項は、例えば、動物培養細胞マニュアル、瀬野ら編著、共立出版、1993年などに記載され支

持されており、本明細書においてこのすべての記載を援用する。

本発明はまた、遺伝子治療に応用され得る。遺伝子治療とは、発現されたか、または発現可能な核酸の、被験体への投与により行われる治療をいう。本発明のこの実施形態において、核酸は、それらのコードされたタンパク質を産生し、

5 そのタンパク質は治療効果を媒介する。

当該分野で利用可能な遺伝子治療のための任意の方法が、本発明に従って使用され得る。例示的な方法は、以下のとおりである。

遺伝子治療の方法の一般的な概説については、Goldspielら, *Clinical Pharmacy* 12:488-505 (1993); WuおよびWu, *Biotherapy* 3:87-95 (1991); Tolstoshev, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:573-596 (1993); Mulligan, *Science* 260:926-932 (1993); ならびにMorganおよびAnderson, *Ann. Rev. Biochem.* 62:191-217 (1993); May, *T*
10 *IBTECH* 11 (5):155-215 (1993) を参照のこと。遺伝子治療において使用される一般的に公知の組換えDNA技術は、Ausubelら (編), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (1993); およびKriegler, *Gene Transfer and Expression*, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990) に記載される。
15
20

(基本技術)

本明細書において使用される技術は、そうではないと具体的に指示しない限り、当該分野の技術範囲内にある、マイクロフルイディクス、微細加工、有機
25 化学、生化学、遺伝子工学、分子生物学、微生物学、遺伝学および関連する分野における周知慣用技術を使用する。そのような技術は、例えば、以下に列挙

した文献および本明細書において他の場所において引用した文献においても十分に説明されている。

微細加工については、例えば、Campbell, S. A. (1996). The Science and Engineering of Micro
5 electronic Fabrication, Oxford University Press; Zaut, P. V. (1996). Micromic
roarray Fabrication: a Practical Guide to Semiconductor Processing, Semiconductor Services; Madou, M. J. (1997).
10 Fundamentals of Microfabrication, CRC
C1 5 Press; Rai-Choudhury, P. (1997). Handbook of Microlithography, Micromach
ining, & Microfabrication: Microlith
ographyなどに記載されており、これらは本明細書において関連する部
15 分が参考として援用される。

本明細書において用いられる分子生物学的手法、生化学的手法、微生物学的手法は、当該分野において周知であり慣用されるものであり、例えば、Sam
brook J. et al. (1989). Molecular Cloni
ng: A Laboratory Manual, Cold Spring
20 Harborおよびその3rd Ed. (2001); Ausubel, F. M.
(1987). Current Protocols in Molecula
r Biology, Greene Pub. Associates and
Wiley-Interscience; Ausubel, F. M. (1989).
Short Protocols in Molecular Biolog
25 y: A Compendium of Methods from Cur
rent Protocols in Molecular Biology,

Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience; Innis, M. A. (1990). PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press; Ausubel, F. M. (1992). Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates; Ausubel, F. M. (1995). Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates; Innis, M. A. et al. (1995). PCR Strategies, Academic Press; Ausubel, F. M. (1999). Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Wiley, and annual updates; Sninsky, J. J. et al. (1999). PCR Applications: Protocols for Functional Genomics, Academic Press、別冊実験医学「遺伝子導入&発現解析実験法」羊土社、1997などに記載されており、これらは本明細書において関連する部分（全部であり得る）が参考として援用される。

人工的に合成した遺伝子を作製するためのDNA合成技術および核酸化学については、例えば、Gait, M. J. (1985). Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach,

IRLPress;Gait, M. J. (1990). Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press;Eckstein, F. (1991). Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, IRL Press;Adams, R. L. et al. (1992). The Biochemistry of the Nucleic Acids, Chapman&Hall;Shabarova, Z. et al. (1994). Advanced Organic Chemistry of Nucleic Acids, Weinheim;Blackburn, G. M. et al. (1996). Nucleic Acids in Chemistry and Biology, Oxford University Press;Hermanson, G. T. (1996). Bioconjugate Techniques, Academic Pressなどに記載されており、これらは本明細書において関連する部分が参考として援用される。

(遺伝子の同時調節の解析)

本明細書において用いられる数値処理は、例えば、生命システム解析のための数学、コロナ社、清水和幸（1999）などにおいて記載される周知技術を適用することができる。以下にそのようなもののなかから代表的な解析手法を説明する。

1つの実施形態では、そのような数値処理は、回帰分析であり得る。回帰分析としては、線形回帰（単回帰分析法、重回帰分析法、ロバスト推定法などが挙げられる）、非線形推定法などが挙げられるがそれらに限定されない。

単回帰分析法では、 n 組のデータ $(x_1, y_1) \sim (x_n, y_n)$ のデータ組を、
 $y_i = ax_i + b + e_i$ ($i = 1, 2 \dots n$) にフィットさせることによって分析が行われる。ここで、 a および b は、モデルパラメータであり、 e_i は直線から

のずれまたは誤差である。ここで、データ点と直接との垂直方向の距離の二乗和の平均値が最小となるように a および b を決めるという分析が通常行われる。このような場合、偏微分をして、連立一次方程式を立て、これを解くことによって、二乗誤差を最低にする値が求められる。このような値を、最小二乗推定値という。

次に、それぞれのデータから平均値を引いた値に対して回帰直接を求める。回帰直線として

$$A \sum_i X_i + B = \sum Y_i$$

というものを想定し、 $B = 0$ を仮定した場合の回帰直線を求めることができる。

- 10 このとき、 (x_i, y_i) ($i = 1, 2, \dots, n$) の中からそれぞれの平均値 (x_{ave} および y_{ave}) を求め、 x の分散 s_{xx} および x 、 y の共分散 s_{xy} を求め、次式により回帰直線を求めることができる。

$$y - y_{ave} = (s_{xy} / s_{xx}) (x - x_{ave}).$$

ここで、 r_{xy} を相関係数とすると、

- 15 $\sum e_i^2 / n = s_{yy} (1 - r_{xy}^2)$ の関係があることから、 $|r_{xy}|$ が 1 に近いほど、誤差は少なく、データは回帰直線でよく表せることを意味する。ここで、 $r_{xy} = s_{xy} / \sqrt{(s_{xx} s_{yy})}$ である。

別の実施形態において使用される重回帰分析法は、 y が 1 つの独立変数ではなく、2 つまたはそれ以上の変数の関数と考えられ、例えば、

20
$$y = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 + \dots + a_n x_n$$

であらわされるような式で表され、これを重回帰式という。ここで、 a_0 などは (偏) 回帰係数と呼ばれる。重回帰分析法では、最小二乗法を適用して、正規方程式を解くことによって、重みつき最小二乗推定が求められる。ここでも単回帰分析と同様の評価を行うことが可能である。

- 25 別の実施形態において、ロバスト推定法が用いられる。最小二乗法は、測定値に偏りがなく、その測定誤差が正規分布をし、モデルにも近似の誤差がない

という前提に基づいている。しかし、ここでは、実際の測定ミス、単純ミスなどがあり得ることから、そのような信頼できないデータを、大多数の信頼できるデータから、アウトライヤー (outlier) として検出して除いたり、または統計処理をすることをロバスト推定法という。このようなロバスト推定

5 法もまた、本発明において利用され得る。

非線形推定法もまた本明細書において用いられ得る。このような非線形推定法では、非線形モデルをベクトル方程式として表して解を求めることが可能である。

本発明において用いられる数理処理としては、このほかに、主成分分析法、
10 があり、二次元データの主成分分析、多次元データの主成分分析、特異値分解、一般化逆行列を利用する。あるいは、正準相関分析法、因子分析法、判別分析法、クラスター分析法などが利用され得る。

(クラスター分析による遺伝子セット分類)

多くの用途に対して、広範な条件にわたって共同で制御される基準転写制御
15 配列のセットを見出すことが所望され得る。このような基準転写制御配列セットを同定する実施形態としては、クラスター化アルゴリズムが挙げられる (クラスター化アルゴリズムの概説は、例えば、Fukunaga、1990、Statistical Pattern Recognition、2nd ed., Academic Press、San Diego; Anderberg、1973、Cluster Analysis for Applications、Academic Press: New York; Everitt、1974、Cluster Analysis、London: Heinemann Educ. Books; Hartigan、1975、Clustering Algorithms、New York: Wiley;
20 y; SneathおよびSokal、1973、Numerical Taxonomy、Freemanを参照)。
25

転写制御配列セットは、転写制御機構に基づいて定義することもできる。調節領域に同一または類似の配列の転写因子結合部位を有している転写制御配列は、共同調節されやすい。ある好ましい実施態様では、目的とする転写制御配列の調節領域を、多重アラインメント分析を用いて比較し、可能な共有転写因子結合部位を解読することができる (Stormo and Hartzel, 1989, Identifying protein binding sites from unaligned DNA fragments, Proc Natl Acad Sci 86:1183-1187; Hertz and Stormo, 1995, Identification of consensus patterns in unaligned DNA and protein sequences: a large-deviation statistical basis for penalizing gaps, Proc of 3rd Intl Conf on Bioinformatics and Genome Research, Lim and Cantor編, World Scientific Publishing Co., Ltd. Singapore, pp. 201-216)。

種々の条件にわたって共同調節される基本的な生物学的因子のセットを見出すことが所望され得る。これにより、本発明の方法が、効率よくプロファイルに基づく判定において十分に機能するようになる。このような基本的な生物学的因子のセットを同定するための好ましい実施形態はクラスター化アルゴリズムを含む

クラスター分析を用いる実施形態において、生物学的サンプルに種々の刺激を施しながら、多数の生物学的因子の状態をモニターすることができる。生物学的因子の状態の測定を含むデータの表がクラスター分析に用いられる。種々の条件にわたって同時変化する生物学的因子を含む基本生物学的因子セットを

得るためには、通常少なくとも2、好ましくは少なくとも3つ、より好ましくは少なくとも10、さらに好ましくは50を超え、最も好ましくは100を超える刺激または条件を用いる。クラスター分析は $m \times k$ 次元を有するデータの表に対して行い、ここで m は条件または刺激の合計数であり、かつ k は測定する生物学的因子の数である。

多くのクラスター化アルゴリズムがクラスター化分析に有用である。クラスター化アルゴリズムは、クラスターを形成する場合に、対象間の相違点または距離を用いる。ある実施形態においては、用いられる距離は多次元空間におけるユークリッド距離：

10 【数1】

$$I(x, y) = \left\{ \sum_i (X_i - Y_i)^2 \right\}^{1/2}$$

15 であり、式中 $I(x, y)$ は遺伝子 X と遺伝子 Y との（または、あらゆる他の細胞構成要素（例えば、生物学的因子） X と Y との）距離であり； X_i および Y_i は刺激 i の下での遺伝子発現応答である。ユークリッド距離を平方してさらに遠隔の対象に徐々に大きくなる重みをかけることができる。その代わりに、距離基準は、例えば生物学的因子 X と生物学的因子 Y との間の、マンハッタン距離であつてもよく、これは：

20 【数2】

$$I(x, y) = \sum_i |X_i - Y_i|$$

25

によって与えられる。ここでもやはり、 X_i および Y_i は刺激 i の下での生物学的因子または遺伝子発現応答である。他の幾つかの距離の定義は、チェビシェフ距離、パワー距離および不一致率である。次元のデータが自然のままでカテゴリー的である場合、 $I(x, y) = (X_i \neq Y_i \text{ の数}) / i$ として定義される不一致率が本発明の方法において利用され得る。このような方法は、細胞応答に関連して特に有用である、他の有用な距離定義は $I = 1 - r$ であり、式中 r は応答ベクトル X 、 Y 間の相関係数であって、正規化内積 $X \cdot Y / |X| |Y|$ とも呼ばれる。具体的には、内積 $X \cdot Y$ は式：

【数 3】

$$X \cdot Y = \sum_i X_i \times Y_i$$

によって定義され、かつ $|X| = (X \cdot X)^{1/2}$ 、 $|Y| = (Y \cdot Y)^{1/2}$ である。

最も好ましくは、距離基準を、例えば、同時変化するおよび／または同時調節される細胞構成要素（同時変化するまたは同時調節される生物学的因子など）を同定するために、問題となっている生物学的問題点に適合させる。例えば、特に好ましい実施形態において、距離は、遺伝子 X および Y の加重内積を含む相関係数を有する $I = 1 - r$ を基準とする。具体的には、この好ましい実施形態において、 r は好ましくは以下に示す式：

【数 4】

$$r = \frac{\sum_i \frac{X_i Y_i}{\sigma_i^{(X)} \sigma_i^{(Y)}}}{\left[\sum_i \left(\frac{X_i}{\sigma_i^{(X)}} \right)^2 \left(\frac{Y_i}{\sigma_i^{(Y)}} \right)^2 \right]^{1/2}}$$

によって定義される。式中、 $\sigma_i^{(X)}$ および $\sigma_i^{(Y)}$ は、実験 i における遺伝子 X および Y の測定とそれぞれ関連する標準誤差である。

上記正規および加重内積の相関係数は、値 $+1$ （２つの応答ベクトルが完全に相関し、本質的に同一であることを示す）と -1 （２つの応答ベクトルが「相関していない」または「同一方向を向いていない」（すなわち反対を向いている）ことを示す）との間に拘束される。これらの相関係数は、細胞構成要素（例えば、生物学的因子、転写制御配列）セットまたはクラスターが同じ兆候の応答を有する細胞構成要素（例えば、生物学的因子、転写制御配列）を求める本発明の実施形態に特に好ましい。

他の実施形態において、同じ生物学的応答または経路を同時調節するかまたははそれに関与しているが、類似しかつ非相関の応答を含む細胞構成要素（例えば、生物学的因子、転写制御配列）のセットまたはクラスターを同定することが好ましい。このような実施形態においては、上述の正規化または加重内積のいずれかの絶対値、すなわち $|r|$ を相関係数として使用することが好ましい。

さらに他の実施形態においては、同時調節されるおよび／または同時変化する細胞構成要素（生物学的因子、転写制御配列など）の間の関係はさらに複雑であり、多数の生物学的経路（例えばシグナル伝達経路）が同じ細胞構成要素（例えば、生物学的因子、転写制御配列）に集まり、異なる結果を出すような例がある。そのような実施形態においては、同時変化するおよび／または同時調節される細胞構成要素（変化に関与しないコントロールとしての別の生物学的因子、転写制御配列）を同定することができる、相関係数 $r = r^{(変化)}$ を用いることが好ましい。以下の式（数５）に特定される相関係数は、そのような実施形態において特に有用である：

25 【数５】

$$r = \frac{\sum_i \left| \frac{x_i}{\sigma_i^{(X)}} \right| \left| \frac{y_i}{\sigma_i^{(Y)}} \right|}{\left[\sum_i \left(\frac{x_i}{\sigma_i^{(X)}} \right)^2 \left(\frac{y_i}{\sigma_i^{(Y)}} \right)^2 \right]^{1/2}}$$

種々のクラスター連関法則が本発明の方法において有用である。

- 5 このような方法としては、例えば、単一連関法、最近接点法などが挙げられ
これらの方法は、2つの最も近い対象物間の距離を測定する。あるいは、本発
明において使用され得る完全連関法は、異なるクラスターにある2つの対象物
間の最大距離で距離を測定する。この方法は、遺伝子または他の細胞構成要素
が天然に別個の「凝集 (clump)」を形成する場合には特に有用である。
- 10 あるいは、非加重ペア群の平均が、2つの異なるクラスターにおける対象物
ペア全ての間の平均距離として距離を定義する。この方法もまた、天然に別個
の「凝集」を形成する遺伝子または他の細胞構成要素をクラスター化するのに
非常に有用である。最後に、加重ペア群平均法も利用可能である。この方法は、
それぞれのクラスターのサイズを重みとして使用することを除けば非加重ペア
- 15 群平均法と同じである。この方法は、生物学的因子などのクラスターのサイズ
が非常に可変すると疑われる実施形態に特に有用である (Sneathおよび
Sokal、1973, Numerical taxonomy, San Francisco: W. H. Freeman & Co.). 他のクラスター連
関法則、例えば非加重および加重ペア群セントロイドおよびウオード法もまた
- 20 本発明のいくつかの実施形態に有用である。例えば、Ward, 1963,
J. Am. Stat Assn. 58: 236; Hartigan, 1975, Clustering algorithms, New York:
Wileyを参照のこと。
- 25 ある好ましい一つの実施形態において、クラスター分析はhclustの周
知技術 (例えば、プログラムS-Plus, MathSoft, Inc., Cambridge, MAからの「hclust」の周知の手順を参照のこと) を

用いて行うことができる。

クラスタ化セットにおける刺激の多様性が大きくなっても、本発明の方法で解析した場合は、通常少なくとも2つ、好ましくは少なくとも3つのプロファイルを解析しただけで、細胞の状態をほぼ解明することができるということが本発明により見出された。このような刺激条件には、異なる濃度での薬剤処理、処理後の異なる測定時間、種々の遺伝子中の遺伝的変異に対する応答、薬剤処理と変異との組合せ、ならびに増殖条件の変化（温度、密度、およびカルシウム濃度など）が含まれる。

本明細書において統計学的に「有意に異なる」とは、2つの統計量について言及されるとき、統計的有意性を伴って異なることをいう。本発明の実施形態において、実験のセットを横断する各細胞構成要素の応答に関する実験の見出しを、モンテカルロ法で無作為化することにより、客観的試験を定義することができる。

ある実施形態においては、客観的試験を以下の方法で定義することができる：
 p_{ki} を、実験 i における構成要素 k の応答とする。 $\Pi_{(i)}$ を実験のインデックスの無作為並べ替えとする。次いで、多数（約100～1000）の異なる無作為並べ替えの各々について、 $p_{k\Pi_{(i)}}$ をたてる。元のツリーの各分枝について、各並べ替えに関して：（1）並べ替えていない元のデータに対して用いたのと同じアルゴリズム（この場合は「hc1ust」）を用いて階層的クラスタ化を行う；

（2）1つのクラスターから2つのクラスターへ移動する際の、クラスター中心に関しての総分散における分別の改善 f を計算する；

【数6】

$$f = 1 - \sum D_k^{(1)} / \sum D_k^{(2)}$$

式中、 D_k は、帰属するクラスターの中心に関しての構成要素 k の距離基準（平均）の二乗である。上付の1または2は、それが全分枝の中心に関するものであるのか、または2つのサブクラスターのうちの好適なクラスターの中心に関するものであるのかを示す。このクラスター化法において使用する距離関数 D の定義には、かなりの自由度がある。これらの例においては、 $D = 1 - r$ であり、 r は、実験セットを横断する1つの構成要素の応答間の、別の応答に対しての（または平均クラスター応答に対しての）相関係数である。

詳細には、好ましくは客観的統計学的検定を用いてあらゆるクラスター化法またはアルゴリズムのグループ化決定の統計学的信頼性を判定することができる。好ましくは、同様の検定を、階層的および非階層的クラスター化法の双方に用いることができる。クラスターのコンパクト性は、例えば、「クラスターの平均値」からのクラスターのエレメントの距離の二乗の平均として、またより好ましくは、クラスターの平均値からのエレメントの距離の二乗の平均値の逆数として、定量的に定義される。特定のクラスターのクラスター平均値は、一般に、クラスターの全てのエレメントの応答ベクトルの平均値として定義される。しかし、特定の実施形態（クラスターの平均値に定義が疑わしい場合など）では、例えば、正規化または加重内積の絶対値を用いて、クラスター化アルゴリズムの距離関数（即ち、 $I = 1 - |r|$ ）を評価する。通常、上記の平均値の定義は、応答ベクトルが反対方向を向き、上記に定義するクラスター平均値がゼロになりうる実施形態では問題を包含し得る。従って、このような実施形態では、クラスターのコンパクト性の異なる定義を選択することが好ましく、例えば限定はしないが、クラスター内のエレメントの全てのペア間の距離の二乗の平均値などがある。あるいは、クラスターのコンパクト性は、クラスターの各エレメント（例えば、細胞構成要素）からそのクラスターの他のエレメントまでの平均距離（またはより好ましくは、平均距離の逆数）を意味すると定義することができる。

本発明において用いられる統計的方法においても使用しうるその他の定義は、当業者には明らかである。

別の実施形態では、本発明のプロファイルは、信号処理技術を用いて解析することができる。そのような信号処理技術では、相関関数を定義し、相関係数を計算し、自己相関関数および相互相関関数を定義し、これらについて、重み付けの総和が1になるように計算することによって、移動平均を求めることができる。

信号処理において、時間領域および周波数領域を考慮することが重要であり得る。自然現象、特に生命および生体の動特性解析において、リズムは重要であることが多い。ここで、ある時間関数 $f(t)$ を考えると、次の条件を満たす関数を周期関数という。

$$f(t) = f(t + T)$$

ここで、時間軸上の基準となる点、例えば、時間0の点を基準に考えると、このときの関数の値は $f(0)$ であり、その後種々の変動を繰り返した後時刻 T の時点で $f(0)$ と同じ値に戻ることになる。このような関数を周期関数と呼び、このような関数としては、例えば、正弦様波が代表例として挙げられる。ここで、 T を周期と呼ぶ。ここで、 T 時間に1回のサイクルを有することをこれは意味するが、単位時間当たりのサイクル数に置き換えて $1/T$ (サイクル/時間) と表現してもその情報は失われない。このように単位時間当たりのサイクル数で表現される概念は周波数と呼ばれる。ここで周波数を f としてあらわすと、

$$f = 1/T$$

で表現できる。ここで、時間と周波数とは表裏の関係であり、時間を扱う場合を時間領域を扱うといい、周波数を扱う場合を周波数領域を扱うという。ここでは、電気工学的に周波数を表現することもできる。例えば、周期は、1周期を角度に直して、 360° または 2π ラジアンとして表現することが可能であ

る。このように表現する場合、 f （サイクル／秒）は 2π （ラジアン／秒）となり、これを一般に ω （ $=2\pi f$ ）とあらわして、角周波数を呼ぶ。

ここで、正弦波と余弦波とを比較すると、余弦波は正弦波に比べて 90° または $\pi/2$ ラジアン平行移動させたものになる。ここで、正弦波は余弦波の時間遅れとしてあらわすことができ、この時間の遅れを位相（phase）という。例えば、純粹な余弦波において位相を0とすると、正弦波では位相は 90° となる。例えば、正弦波と余弦波とを足したものは、振幅が $\sqrt{2}$ 増え、位相が $\pi/4$ となる。

このような解析において、フーリエ級数および周波数解析の手法が利用され得る。また、フーリエ変換、離散フーリエ変換およびパワースペクトルを利用することも可能である。フーリエ級数展開において、ウェーブレット変換の方法などが利用され得る。このような手法は、当該分野において周知であり、生命システム解析のための数学、コロナ社、清水和幸（1999）、臨床医学のためのウェーブレット解析、医学出版、石川康宏に記載されている。

15 (好ましい実施形態の説明)

以下に好ましい実施形態の説明を記載するが、この実施形態は本発明の例示であり、本発明の範囲はそのような好ましい実施形態に限定されないことが理解されるべきである。

1つの局面において、本発明は、細胞の状態を提示する方法を提供する。このような方法は、a) 上記細胞に由来する生物学的因子群から選択される少なくとも1つの生物学的因子に関連する細胞の状態を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルを得る工程；およびb) 上記プロファイルを提示する工程；を包含する。ここでは、例えば、モニターした結果得られる信号強度のプロファイルを区間微分することにより、変化の関数を得、表示することができる。

25 この場合、好ましくは、例えば、構成的プロモーターなどの変化しないと仮定される生物学的因子を基準に差分を取ることによってそのようなプロファイル

を得ることができるがそれに限定されない。

プロファイルの表示には、どのような方法を用いてもよい。例えば、ディスプレイを用いて視覚的に表示してもよく（例えば、 x 軸に時間、 y 軸に信号強度）、あるいは、表計算ソフトウェアなどを利用して、数値表として表示してもよい。あるいは、信号強度をある別の光強度としてディスプレイに表示することも可能である。あるいは、プロファイルは、音声によって表示してもよい。

好ましくは、細胞は、支持体（好ましくは、固相支持体、例えば、アレイ、プレート、マイクロタイタープレートなど）に固定された状態でモニターされる。そのような固定方法は、当該分野において公知の任意の方法または本明細書において記載される方法に基づいて行うことができる。細胞を固定することによって、検査を系統立てて行うことができる。

好ましい実施形態において、このようなプロファイルは、リアルタイムで提示され得る。ここで、リアルタイムは、実質的に同時に表示することができる限り、ある程度のタイムラグが生じててもよい。許容されるタイムラグは、求められるリアルタイムの同時性によるが、例えば、最大で10秒であり、より好ましくは最大で1秒であり得る。

別の局面において、本発明は、細胞の状態を判定する方法を提供する。このような細胞の状態の判定は、転写制御因子の転写状態の変化をプロセスとして観察することから、従来においてはまったく観察されていなかった要素を判断要因に加えることになる。従って、本発明の細胞状態の判定方法は、従来観察することができなかった種々の状態を判定することを可能にする。このような方法は、a) 上記細胞に由来する生物学的因子群から選択される少なくとも1つの生物学的因子に関連する転写状態を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルを得る工程；およびb) 上記転写状態のプロファイルから上記細胞の状態を判定する工程を包含する。

好ましくは、細胞は、支持体（好ましくは、固相支持体、例えば、アレイ、

プレート、マイクロタイタープレートなど)に固定された状態でモニターされる。そのような固定方法は、当該分野において公知の方法または本明細書において記載される方法に基づいて行うことができる。

- 5 好ましい実施形態において、本発明の細胞状態判定方法では、プロファイルと細胞の状態とを予め相関付ける工程をさらに包含することが有利であり得る。あるいは、そのような相関付けの情報があらかじめ提供されてもよい。そのような相関付けの工程は、判定を行うごとに行ってもよく、データベースとして保存したものをを用いてもよい。

- 10 好ましい実施形態では、使用される生物学的因子は、転写制御配列であってもよく、このような転写制御配列は、例えば、プロモーター、エンハンサー、サイレンサー、他のゲノム構造中構造遺伝子のフランキング配列およびエキソン以外のゲノム配列などであり得るがそれらに限定されない。プロモーターが好ましい。転写状態を直接測定することができるからであり、転写状態は、しばしば、細胞の状態を如実に反映するからである。特定の実施形態では、転写
15 制御配列群は、構成的プロモーター、特異的プロモーターおよび誘導性プロモーターなどであり得る。

- 1つの実施形態において、本発明の生物学的因子(例えば、プロモーター)は、どのようなものでもよく、むしろ、種類を選ばないことが特徴である。本発明の方法を用いることにより、プロファイルを「プロセス」という視点で解析することが可能となったことから、任意の生物学的因子(例えば、プロモーター、構造遺伝子など)またはその異種または同種のセットを用いて細胞の状態を判定することが可能になった。そのような判定は、従来の技術では不可能であったことであり、本発明は、従来技術からは達成不可能であったことを達成したという意味でその有用性は高い。

- 25 好ましい実施形態では、モニターされる生物学的因子(例えば、転写制御配列)は、少なくとも2つ使用される。少なくとも2つの生物学的因子を観察す

ることによって、通常80%以上（好ましい場合は90%以上、場合によってはほぼ100%）の細胞状態の同定が可能になるからである。より好ましくは、モニターされる生物学的因子は、少なくとも3つの生物学的因子を含む。少なくとも3つの生物学的因子を観察することによって、通常90%以上（好ましい場合は95%以上、場合によってはほぼ100%）の生物学的因子を同定することが可能となるからである。最も好ましい実施形態において、モニターされる生物学的因子は、少なくとも8つの転写制御配列を含む。少なくとも8つの生物学的因子を観察することによって、通常、すべての細胞状態を同定することが可能となるからである。このように、任意の生物学的因子を選択したにもかかわらず、上述のような少ない数のみを選択し、それをモニターすることによって、ほぼすべての細胞の状態を判定することができることは、予想されていなかったことであり、これは、時間点ごとに観察し、それをヘテロな集団として統計処理をした従来の判定方法に比較して、はるかに簡便で精密で正確な判定を提供することになる。

従って、本発明の判定方法では、モニターする前に、生物学的因子群から、少なくとも1つの生物学的因子を任意に選択する工程をさらに包含することが好ましい。本発明の1つの重要な特徴は、生物学的因子として、点ごとの調査では特異性を示していないものでも使用可能であるという点にあるからである。また、本発明では、同一環境において線形的に測定されたデータを利用することから、得られるデータが対象となる細胞の状態をより正確に反映することになる。このような精度のデータは、従来技術では取得不可能であったものである。

好ましい実施形態において、本発明において得られるプロファイルは、リアルタイムで提示され得る。あるいは、本発明において、データはリアルタイムで得られ得る。本明細書でいう「リアルタイム」は、実質的に同時に表示することができる限り、ある程度のタイムラグが生じてよいことを意味する。許

容されるタイムラグは、求められるリアルタイムの同時性によるが、例えば、最大で10秒であり、より好ましくは最大で1秒であり得る。例えば、リアルタイムの診断が必要な治療などでは、そのリアルタイム性は、例えば、最大で30秒であってもよく、それより長い時間であってもよい。

- 5 好ましい特定の実施形態において、本発明の細胞の状態判定方法で判定される状態としては、例えば、分化状態、未分化状態、外来因子に対する細胞応答、細胞周期および増殖状態などが挙げられる。より詳細には、そのような状態としては、例えば、がん細胞の抗がん剤に対する応答、薬剤耐性、生物時間に対する応答、幹細胞（例えば、間葉系幹細胞、神経幹細胞など）の分化状態、あ
- 10 るいは精製した幹細胞（例えば胚性幹細胞）の未分化状態、細胞形態の変化、細胞の移動状態、分子の細胞内局在化、分泌物質産生能力などが挙げられるがそれらに限定されない。

- 好ましい実施形態では、本発明において使用される細胞としては、幹細胞または体細胞あるいはそれらの混合物が挙げられるがそれらに限定されない。あ
- 15 るいは、そのような細胞は、付着細胞、浮遊細胞、組織形成細胞およびそれらの混合物であってもよい。

- 1つの特定の好ましい実施形態では、本発明の細胞状態判定方法は、支持体（好ましくは固体支持体）として基板上に固定された細胞を対象として行うことができる。そのような場合、固相支持体はチップと呼ばれ、細胞が整列して
- 20 配置される場合はアレイとも呼ばれる。

- 特に好ましい実施形態において、本発明の細胞状態判定方法では、判定に供される生物学的因子（例えば、転写制御配列）が核酸分子である場合、その核酸分子と作動可能に連結されるレポーター遺伝子配列を含む核酸分子という形態で対象となる細胞にトランスフェクトされることが有利である。このような
- 25 形態を採用することによって、転写状態がレポーター遺伝子の信号として測定することが可能となるからである。

このようなトランスフェクトは、固相上または液相中で行われ得る。ここで、トランスフェクトのために、標的物質の細胞への導入効率を上昇させるための方法が利用され得る。本発明は、通常の条件下では、ほとんど細胞に導入されない標的物質（例えば、DNA、RNA、ポリペプチド、糖鎖またはそれらの複合物質など）を、フィブロネクチンのようなアクチン作用物質とともに細胞に提示する（好ましくは、接触させる）ことによって、その標的物質が効率よく細胞に導入されるという作用を利用する。従って、このトランスフェクション方法は、A) 標的物質（すなわち、転写制御配列を含むDNA）を提供する工程；B) アクチン作用物質（例えば、フィブロネクチン）を提供する工程を順不同に包含し、C) 該標的物質および該アクチン作用物質を該細胞に接触させる工程をさらに包含する。ここで、標的物質およびアクチン作用物質は、一緒に提供されてもよく、別々に提供されてもよい。アクチン作用物質としては、上述の本発明の標的物質の細胞内への導入の効率を上昇させるための組成物において詳述した形態が適用され得る。そのような形態は、当業者は、本明細書の記載に基づけば、適切な形態を選択し実施することができる。したがって、このようなアクチン作用物質としては、本発明の標的物質の細胞への導入効率を上昇させるための組成物において適用される形態を当業者が任意に選択して本発明を実施することができる。好ましくは、アクチン作用物質は、細胞外マトリクスタンパク質（例えば、フィブロネクチン、ビトロネクチン、ラミニンなど）またはその改変体であり得る。より好ましくは、フィブロネクチンまたはその改変体もしくはそのフラグメントが使用され得る。

1つの実施形態において、本発明において使用される生物学的因子が転写制御配列である場合、その配列は転写因子に結合する能力を有する。そのような転写因子としては、例えば、ISRE、RARE、STAT3、GAS、NFAT、M1C、AP1、SRE、GRE、CRE、NF κ B、ERE、TRE、E2F、Rb、p53などが挙げられるがそれらに限定されない。このような

転写因子は、セットとしてBD Biosciences Clontech, CA, USA から市販されているものを利用することができる。ここで、ISREは、STAT1/2と関連し、RAREはレチノイン酸と関連する。STAT3は分化制御に関連し、GREは糖代謝に関連する。CREは、cAMPに関連し、TREは甲状腺ホルモンに関連する。E2Fは細胞周期に関連し、p53はG1チェックポイントに関連する。従って、このような情報を元に、細胞状態を判定することが可能である。

好ましい実施形態において、本発明における判定工程は、本発明で得られたプロファイルの位相を比較することを包含する。位相の算出は、本明細書において上述される一般方法、および実施例に記載される方法を参酌して、当業者が適宜行うことができる。

別の好ましい実施形態において、本発明における判定工程は、上記細胞のプロファイルとコントロールプロファイルとの差分をとる工程を包含する。差分の算出は、本明細書において上述される一般方法、および実施例に記載される方法を参酌して、当業者が適宜行うことができる。

別の好ましい実施形態において、本発明における判定工程は、信号処理法および多変量解析からなる群より選択される数学処理を包含する。このような数学処理は、当業者には周知であり、本明細書の記載を参酌して、容易に実施することができる。

別の局面において、本発明は、外来因子と、外来因子に対する細胞の応答とを相関付ける方法を提供する。この方法では、a) 上記細胞を外来因子に曝露する工程；b) 上記細胞に存在する転写制御因子群から選択される少なくとも1つの転写制御因子に関連する転写状態を経時的にモニターして、上記細胞のプロファイルを得る工程；およびc) 上記外来因子と、上記プロファイルとを相関付ける工程が包含される。

本発明において相関付けがされる外来因子はどのようなものでもよい。その

ような外来因子は、細胞に直接または間接的に適用可能であるものが好ましい。外来因子の曝露方法は当該分野において周知であり、その外来因子の種類などによって変動する。物質であれば、その物質を溶媒中に溶解し、その溶液を細胞を含む培地中に滴下することによって曝露が達成される。

- 5 本発明の相関付けの方法でもまた、プロファイルの生成は、上述のように行うことができる。

本発明の相関付けの方法における、外来因子と、プロファイルとの相関付けは、種々の方法を提供して行うことができる。簡便には、ある外来因子が滴下された場合のプロファイルをパターン化し、そのプロファイルからの相違が少
10 ない場合には、その外来因子が滴下されたと推定することができる。

好ましくは、細胞は、固相支持体（例えば、アレイ、プレート、マイクロタ
イタープレートなど）に固定された状態でモニターされる。そのような固定方
法は、当該分野において公知の方法または本明細書において記載される方法に
基づいて行うことができる。

- 15 好ましい実施形態において、本発明の相関付け方法では、少なくとも2つの
外来因子を使用して、各外来因子に対するプロファイルを得る工程を包含して
もよい。このような外来因子は、ある実施形態では、少なくとも3つ、あるい
は4つ、より好ましくは、少なくとも10個用いられ得るがそれらに限定され
ない。

- 20 特定の実施形態において、本発明の相関付けの方法は、少なくとも2つのプ
ロファイルを類別することにより、該プロファイルに対応する外来因子を類別
する工程を包含する。このような類別は、当業者は、本明細書の記載を参酌す
れば、容易に行うことができる。このような類別により、本発明の方法を用い
て、未知の外来因子の相関付けおよび同定を達成することができる。

- 25 好ましい実施形態では、生物学的因子として転写制御配列が使用される場合
は、そのような配列は、プロモーター、エンハンサー、サイレンサー、他のゲ

ノム構造中構造遺伝子のフランキンギン配列およびエキソン以外のゲノム配列などであり得るがそれらに限定されない。プロモーターが好ましい。転写状態を直接測定することができるからである。

5 特定の実施形態では、転写制御配列群は、構成的プロモーター、特異的プロモーターおよび誘導性プロモーターなどであり得る。ここで、プロモーターは、どのようなものでもよく、むしろ、種類を選ばないことが特徴である。本発明の方法を用いることにより、プロファイルを「プロセス」という視点で解析することが可能となったことから、任意のプロモーターまたはそのセットを用いて細胞の状態を判定することが可能になった。そのような判定は、従来の技術
10 では不可能であったことであり、本発明は、従来技術からは達成不可能であったことを達成したという意味でその有用性は高い。

好ましい実施形態では、モニターされる生物学的因子（例えば、転写制御配列）は、少なくとも2つ使用される。少なくとも2つの生物学的因子を観察することによって、通常80%以上（好ましい場合は90%以上、場合によってはほぼ100%）の細胞状態の同定が可能になるからである。より好ましくは、
15 モニターされる生物学的因子は、少なくとも3つの生物学的因子を含む。少なくとも3つの生物学的因子を観察することによって、通常90%以上（好ましい場合は95%以上、場合によってはほぼ100%）の生物学的因子を同定することが可能となるからである。最も好ましい実施形態において、モニターされる生物学的因子は、少なくとも8つの転写制御配列を含む。少なくとも8つの生物学的因子を観察することによって、通常、すべての細胞状態を同定することが可能となるからである。このように、任意の生物学的因子を選択したにもかかわらず、上述のような少ない数のみを選択し、それをモニターすることによって、ほぼすべての細胞の状態を判定することができることは、予想され
20 ていなかったことであり、これは、時間点ごとに観察し、それをヘテロな集団として統計処理をした従来の判定方法に比較して、はるかに簡便で精密で正確

な判定を提供することになる。

従って、本発明の判定方法では、モニターする前に、生物学的因子群から、少なくとも1つの生物学的因子を任意に選択する工程をさらに包含することが好ましい。本発明の1つの重要な特徴は、生物学的因子として、点ごとの調査
5 では特異性を示していないものでも使用可能であるという点にあるからである。

好ましい実施形態において、このようなプロファイルは、リアルタイムで提示され得る。ここで、リアルタイムは、実質的に同時に表示することができる限り、ある程度のタイムラグが生じてよい。許容されるタイムラグは、求められるリアルタイムの同時性によるが、例えば、最大で10秒であり、より好
10 ましくは最大で1秒であり得る。例えば、リアルタイムの外来因子の同定が必要な環境測定などでは、そのリアルタイム性は、例えば、最大で1秒または最大で0.1秒などであってもよい。あるいは、データがリアルタイムで記録媒体に格納された後、格納されたデータに基づいてタイムラグをもってそのデータに対応するプロファイルが提示されてもよい。

15 本発明の相関付けの好ましい実施形態において、工程c)では、外来因子との相関付けに使用される上記プロファイルの情報として、該プロファイルの位相が用いられる。位相は、ある周期における信号強度がプラスおよびマイナスの二種類で表示され、そのように単純化された方法を用いても、細胞を同定あるいは外来因子を同定することができることから、本発明の方法の精密性が実
20 証される。

好ましくは、本発明の方法では、細胞は、アレイ上で培養されることが有利である。アレイ上で培養することによって、多数の細胞の観察を一度に行うことができるからである。好ましくは、アレイのような固体支持体上で細胞が固定されるときは、塩が使用され得る。

25 好ましい実施形態において、細胞の状態の経時的モニターは、上記アレイから画像データを得る工程を包含する。画像データを提供することによって、目

視も可能になり、人間（特に、医師などの当業者）の目による判断を得ることが容易になるからである。

本発明の好ましい実施形態において、外来因子とプロファイルとを相関付けの工程は、プロファイルの位相の異同を識別することを包含する。位相は上述
5 したように、簡便なパラメータであり、その情報処理が簡便であるからであり、その簡便な情報処理によるのみで、細胞を十分に同定することが可能である。

好ましい実施形態において、本発明の方法において同定されるべき外来因子としては、温度変化、湿度変化、電磁波、電位差、可視光線、赤外線、紫外線、X線、化学物質、圧力、重力変化、ガス分圧および浸透圧などが挙げられるが
10 それらに限定されない。このような因子は、従来の方法では、十分に同定することができなかったが、プロセスを重視した本発明の細胞判定方法を用いることによって、十分に因子の細胞に対する影響を調査することが可能になった。

特に好ましい実施形態では、本発明の方法において同定されるべき外来因子は化学物質であり、そのような化学物質としては、生体分子、化学合成物または
15 は培地などが挙げられる。

このような生体分子としては、例えば、核酸、タンパク質、脂質、糖、プロテオリピッド、リポプロテイン、糖タンパク質およびプロテオグリカンなどが挙げられるがそれらに限定されない。このような生体分子は、生物に対して影
20 響を与えることが公知であるか、未知であってもその可能性が十分に高いことから、調査対象として重要なものであると考えられる。

特に好ましくは、細胞に影響を与えることが期待される、ホルモン、サイトカイン、細胞接着因子、細胞外マトリクス、レセプターのアゴニストまたはアンタゴニストなどが調査されるべき生体分子として利用される。

別の局面において、本発明は、細胞のプロファイルから、細胞に与えられた
25 未同定の外来因子を推定するための方法を提供する。本発明の方法は、a) 上記細胞を複数の既知の外来因子に曝露する工程；b) 上記細胞に存在する生物

- 学的因子群から選択される少なくとも1つの生物学的因子に関連する転写状態を経時的にモニターして、既知の外来因子の各々に対する上記細胞のプロファイルを得る工程；c) 上記既知の外来因子の各々と、上記プロファイルの各々とを相関付ける工程；d) 上記細胞を未同定の外来因子に曝露する工程；e)
- 5 上記選択された生物学的因子に関連する細胞の状態を経時的にモニターして、未同定の外来因子に関する上記細胞のプロファイルを得る工程；f) 上記工程（b）で得られたプロファイルの中から、上記工程（e）で得られたプロファイルに対応するプロファイルを決定する工程；およびg) 上記未同定の外来因子は、上記工程（f）において決定されたプロファイルに対応する上記既知の
- 10 外来因子であることを決定する工程；を包含する。

- この方法において、外来因子の曝露は、本明細書において上述し、実施例において例示するように行うことができる。プロファイルの生成もまた、本明細書において上述し、実施例において例示するように行うことができる。相関付けもまた、本明細書において上述し、実施例において例示するように行うこと
- 15 ができる。このようにして、既知の外来遺伝子に関する情報がそろったところに、未同定の外来因子について同様のモニターを行い、それらを比較して、その未同定の外来因子が既知のものであるかどうかを判定することが可能である。この場合、プロファイルがまったく同じであれば、当然に同じであると判断することが可能であるが、実質的に同じである場合もまた、既知外来因子と判定
- 20 することが可能である。そのような判定は、その既知の外来因子に関する情報の量および質に依存する。そのような判定の判断は、当業者には容易であり、種々の要素を考慮して決定することができる。

- 別の局面において、本発明は、細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を推定するための方法を提供する。このような方法は、a)
- 25 上記細胞に存在するプロモーター群から選択される少なくとも1つのプロモーターに関して、既知の外来因子と、上記既知の外来因子に対応する上記細胞の

- プロファイルとの相関関係に関するデータを提供する工程； b) 上記細胞を未同定の外来因子に曝露する工程； c) 上記選択された生物学的因子に関連する細胞の状態を経時的にモニターして、上記細胞のプロファイルを得る工程； d) 上記工程（a）において提供された、上記プロファイルの中から、上記工程（c）
- 5 において得られたプロファイルに対応するプロファイルを決定する工程；および e) 上記未同定の外来因子は、上記決定されたプロファイルに対応する上記既知の外来因子であることを決定する工程を包含する。

ここで、外来遺伝子の曝露、プロファイル生成、相関付けなどは、本明細書において上述し、実施例において例示するような技術を利用することができる。

- 10 別の局面において、本発明は、細胞の状態を提示するためのシステムを提供する。このようなシステムは、 a) 上記細胞に由来する生物学的因子群から選択される少なくとも1つの生物学的因子に関連する転写状態を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルを得る手段；および b) 上記プロファイルを提示する手段を備える。システム構成例は、図32に示される。

- 15 本発明の細胞状態提示方法を実行するコンピュータ構成あるいはそれを実現するシステムの例を図17を参照して示す。図17は、本発明の細胞状態提示方法を実行するコンピュータの500の構成例を示す。システム構成例は、図32に示される。

- 20 コンピュータ500は、入力部501と、CPU502と、出力部503と、メモリ504と、バス505とを備える。入力部501と、CPU502と、出力部503と、メモリ504とは、バス505によって相互に接続されている。入力部501と出力部503とは入出力装置506に接続されている。

コンピュータ500によって実行される細胞状態提示の処理の概略を説明する。

- 25 細胞状態提示方法を実行させるプログラム（以下、細胞状態提示プログラムという）は、例えば、メモリ502に格納されている。あるいは、細胞状態提

示プログラムは、それぞれ独立してあるいは一緒に、フロッピーディスク、MO、CD-ROM、CD-R、DVD-ROMのような任意のタイプの記録媒体に記録され得る。あるいは、アプリケーションサーバに格納されていてもよい。そのような記録媒体に記録された細胞状態提示プログラムは、入出力装置
5 506（例えば、ディスクドライブ、ネットワーク（例えば、インターネット））を介してコンピュータ500のメモリ504にロードされる。CPU502が細胞状態提示プログラムを実行することによって、コンピュータ500は、本発明の細胞状態提示方法の処理を実行する装置として機能する。

入力部501を介して、細胞に関する情報などを入力する。また、測定され
10 たプロファイルのデータも入力される。必要に応じて、既知の情報に関する情報も入力してもよい。

CPU502は、入力部501で入力された情報をもとに、プロファイルデータおよび細胞の情報から表示データを生成し、メモリ504に表示データを格納する。その後、CPU502は、これらの情報をメモリ504に格納し得
15 る。その後、出力部503は、CPU502が選択した細胞の状態を表示データとして出力する。出力されたデータは、入出力装置506から出力され得る。

別の局面において、本発明は、細胞の状態を判定するシステムを提供する。このようなシステムは、a) 上記細胞に由来する生物学的因子群から選択され
20 る少なくとも1つの生物学的因子に関連する転写状態を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルを得る手段；およびb) 上記転写状態のプロファイルから上記細胞の状態を判定する手段、を備える。システム構成例は、図32に示される。

本発明の細胞状態判定方法を実行するコンピュータ構成あるいはそれを実現
25 するシステムの例を図17を参照して示す。図17は、本発明の細胞状態判定方法を実行するコンピュータの500の構成例を示す。システム構成例は、図

32に示される。

コンピュータ500は、入力部501と、CPU502と、出力部503と、メモリ504と、バス505とを備える。入力部501と、CPU502と、出力部503と、メモリ504とは、バス505によって相互に接続されている。入力部501と出力部503とは入出力装置506に接続されている。

コンピュータ500によって実行される細胞状態判定の処理の概略を説明する。

細胞状態判定方法を実行させるプログラム（以下、細胞状態判定プログラムという）は、例えば、メモリ502に格納されている。あるいは、細胞状態判定プログラムは、それぞれ独立してあるいは一緒に、フロッピーディスク、MO、CD-ROM、CD-R、DVD-ROMのような任意のタイプの記録媒体に記録され得る。あるいは、アプリケーションサーバに格納されていてもよい。そのような記録媒体に記録された細胞状態判定プログラムは、入出力装置506（例えば、ディスクドライブ、ネットワーク（例えば、インターネット））を介してコンピュータ500のメモリ504にロードされる。CPU502が細胞状態判定プログラムを実行することによって、コンピュータ500は、本発明の細胞状態判定方法の処理を実行する装置として機能する。

入力部501を介して、細胞に関する情報などを入力する。また、測定されたプロファイルのデータも入力される。必要に応じて、既知の情報に関する情報も入力してもよい。

CPU502は、入力部501で入力された情報をもとに、プロファイルデータおよび細胞の情報から細胞の状態を判定し、その結果を判定結果データとして生成し、メモリ504に判定結果データを格納する。その後、CPU502は、これらの情報をメモリ504に格納し得る。その後、出力部503は、CPU502が選択した細胞の状態を判定結果データとして出力する。出力されたデータは、入出力装置506から出力され得る。

別の局面において、本発明は、外来因子と、外来因子に対する細胞の応答とを相関付けるためのシステムを提供する。このシステムは、a) 上記細胞を外来因子に曝露する手段；b) 上記細胞に存在するプロモーター群から選択される少なくとも1つのプロモーターに関連する転写状態を経時的にモニターして、
5 上記細胞のプロファイルを得る手段；およびc) 上記外来因子と、上記プロファイルとを相関付ける手段を備える。このようなシステムもまた、上述のシステムと同様にコンピュータを用いて実現することができる。システム構成例は、図32に示される。

他の局面において、本発明は、細胞のプロファイルから、細胞に与えられた
10 未同定の外来因子を推定するためのシステムを提供する。このようなシステムは、a) 上記細胞を複数の既知の外来因子に曝露する手段；b) 上記細胞に存在する生物学的因子群から選択される少なくとも1つの生物学的因子に関連する細胞の状態を経時的にモニターして、既知の外来因子の各々に対する上記細胞のプロファイルを得る手段；c) 上記既知の外来因子の各々と、上記プロフ
15 アイルの各々とを相関付ける手段；d) 上記細胞を未同定の外来因子に曝露する手段；e) 上記選択されたプロモーターに関連する転写状態を経時的にモニターして、未同定の外来因子に関する上記細胞のプロファイルを得る手段；f) 上記手段（b）で得られたプロファイルの中から、上記手段（e）で得られたプロファイルに対応するプロファイルを決
20 定する手段；およびg) 上記未同定の外来因子は、上記手段（f）において決定されたプロファイルに対応する上記既知の外来因子であることを決定する手段を備える。このようなシステムもまた、上述のシステムと同様にコンピュータを用いて実現することができる。システム構成例は、図32に示される。

他の局面において、本発明は、細胞のプロファイルから、細胞に与えられた
25 未同定の外来因子を推定するためのシステムを提供する。このようなシステムは、a) 上記細胞に存在する生物学的因子群から選択される少なくとも1つの

プロモーターに関して、既知の外来因子と、上記既知の外来因子に対応する上記細胞のプロファイルとの相関関係に関するデータを提供する手段； b) 上記細胞を未同定の外来因子に曝露する手段； c) 上記選択された生物学的因子に関連する細胞の状態を経時的にモニターして、上記細胞のプロファイルを得る手段； d) 上記手段（a）において提供された、上記プロファイルの中から、上記手段（c）において得られたプロファイルに対応するプロファイルを決定する手段； および e) 上記未同定の外来因子は、上記決定されたプロファイルに対応する上記既知の外来因子であることを決定する手段を備える。このようなシステムもまた、上述のシステムと同様にコンピュータを用いて実現することができる。システム構成例は、図 3 2 に示される。

本発明が上述のようにシステム形態として提供される場合、各々の構成要件は、本発明が方法として提供されるのと同様の詳細なまたは好ましい実施形態を適用して実施することが可能であり、そのような好ましい実施形態の選択は、当業者には容易であり、当業者は、このようなシステムの好ましい実施形態を、本明細書の記載を参酌して容易に行うことができる。システム構成例は、図 3 2 に示される。

別の局面において、本発明は、コンピュータに細胞の状態を提示する処理を実行させるためのプログラムを記録したコンピュータ読み取り可能な記録媒体を提供する。ここで、この記録媒体には、少なくとも、 a) 上記細胞に由来する生物学的因子群から選択される少なくとも 1 つの生物学的因子に関連する転写状態を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルを得る手順； および b) 上記プロファイルを提示する手順、を実行させるためのプログラムが記録されている。

別の局面において、本発明は、コンピュータに、細胞の状態を判定する処理を実行させるためのプログラムを記録したコンピュータ読み取り可能な記録媒体を提供する。このような記録媒体には、少なくとも a) 上記細胞に由来する

生物学的因子群から選択される少なくとも1つの生物学的因子に関連する転写状態を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルを得る手順；およびb) 上記転写状態のプロファイルから上記細胞の状態を判定する手順、を実行させるためのプログラムが記録されている。

- 5 別の局面において、本発明は、コンピュータに、外来因子と、外来因子に対する細胞の応答とを相関付けるための処理を実行させるためのプログラムを記録したコンピュータ読み取り可能な記録媒体を提供する。この記録媒体には、少なくともa) 上記細胞を外来因子に曝露する手順；b) 上記細胞に存在するプロモーター群から選択される少なくとも1つのプロモーターに関連する転写
- 10 状態を経時的にモニターして、上記細胞のプロファイルを得る手順；およびc) 上記外来因子と、上記プロファイルとを相関付ける手順、を実行させるためのプログラムが記録されている。

- 他の局面において、本発明は、コンピュータに、細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を推定するための処理を実行させるための
- 15 プログラムを記録したコンピュータ読み取り可能な記録媒体を提供する。この記録媒体には、少なくともa) 上記細胞を複数の既知の外来因子に曝露する手順；b) 上記細胞に存在するプロモーター群から選択される少なくとも1つのプロモーターに関連する転写状態を経時的にモニターして、既知の外来因子の各々に対する上記細胞のプロファイルを得る手順；c) 上記既知の外来因子の
- 20 各々と、上記プロファイルの各々とを相関付ける手順；d) 上記細胞を未同定の外来因子に曝露する手順；e) 上記選択されたプロモーターに関連する転写状態を経時的にモニターして、未同定の外来因子に関する上記細胞のプロファイルを得る手順；f) 上記手順（b）で得られたプロファイルの中から、上記手順（e）で得られたプロファイルに対応するプロファイルを決定する手順；
- 25 およびg) 上記未同定の外来因子は、上記手順（f）において決定されたプロファイルに対応する上記既知の外来因子であることを決定する手順、を実行さ

せるためのプログラムが記録されている。

他の局面において、本発明は、コンピュータに、細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を推定するための処理を実行させるためのプログラムを記録したコンピュータ読み取り可能な記録媒体を提供する。この

5 記録媒体には、少なくとも a) 上記細胞に存在するプロモーター群から選択される少なくとも 1 つのプロモーターに関して、既知の外来因子と、上記既知の外来因子に対応する上記細胞のプロファイルとの相関関係に関するデータを提供

10 する手順； b) 上記細胞を未同定の外来因子に曝露する手順； c) 上記選択されたプロモーターに関連する転写状態を経時的にモニターして、上記細胞のプロファイルを得る手順； d) 上記手順 (a) において提供された、上記プロファイルの中から、上記手順 (c) において得られたプロファイルに対応するプロファイル

15 を決定する手順；および e) 上記未同定の外来因子は、上記決定されたプロファイルに対応する上記既知の外来因子であることを決定する手順、を実行させるためのプログラムが記録されている。

15 本発明が上述のように記録媒体形態として提供される場合、各々の構成要件は、本発明が方法として提供されるのと同様の詳細なまたは好ましい実施形態を適用して実施することが可能であり、そのような好ましい実施形態の選択は、当業者には容易であり、当業者は、このような記録媒体の好ましい実施形態を、本明細書の記載を参酌して容易に行うことができる。

20 別の局面において、本発明は、コンピュータに細胞の状態を提示する処理を実行させるためのプログラムを提供する。ここで、このプログラムは、少なくとも a) 上記細胞に由来する生物学的因子群から選択される少なくとも 1 つの生物学的因子に関連する細胞の状態を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルを得る手順；および b) 上記プロファイル

25 を提示する手順、を実行させる。

別の局面において、本発明は、コンピュータに、細胞の状態を判定する処理

を実行させるためのプログラムを提供する。ここで、このプログラムは、少なくとも a) 上記細胞に由来する生物学的因子群から選択される少なくとも 1 つの生物学的因子に関連する転写状態を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルを得る手順；および b) 上記転写状態のプロファイルから上記細胞の状態を判定する手順、を実行させる。

別の局面において、本発明は、コンピュータに、外来因子と、外来因子に対する細胞の応答とを相関付けるための処理を実行させるためのプログラムを提供する。このプログラムは、少なくとも a) 上記細胞を外来因子に曝露する手順； b) 上記細胞に存在するプロモーター群から選択される少なくとも 1 つのプロモーターに関連する転写状態を経時的にモニターして、上記細胞のプロファイルを得る手順；および c) 上記外来因子と、上記プロファイルとを相関付ける手順、を実行させる。このような手順を実行させるための技術は、当該分野において周知であり、その目的に応じて適切なプログラムを当業者は作成することができる。

他の局面において、本発明は、コンピュータに、細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を推定するための処理を実行させるためのプログラムを提供する。このプログラムは、少なくとも a) 上記細胞を複数の既知の外来因子に曝露する手順； b) 上記細胞に存在する生物学的因子群から選択される少なくとも 1 つの生物学的因子に関連する細胞の状態を経時的にモニターして、既知の外来因子の各々に対する上記細胞のプロファイルを得る手順； c) 上記既知の外来因子の各々と、上記プロファイルの各々とを相関付ける手順； d) 上記細胞を未同定の外来因子に曝露する手順； e) 上記選択されたプロモーターに関連する転写状態を経時的にモニターして、未同定の外来因子に関する上記細胞のプロファイルを得る手順； f) 上記手順 (b) で得られたプロファイルの中から、上記手順 (e) で得られたプロファイルに対応するプロファイルを決定する手順；および g) 上記未同定の外来因子は、上記手順

(f) において決定されたプロファイルに対応する上記既知の外来因子であることを決定する手順、を実行させる。

他の局面において、本発明は、コンピュータに、細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を推定するための処理を実行させるための
5 プログラムを提供する。このプログラムは、少なくとも a) 上記細胞に存在する生物学的因子群から選択される少なくとも 1 つの生物学的因子に関して、既知の外来因子と、上記既知の外来因子に対応する上記細胞のプロファイルとの相関関係に関するデータを提供する手順； b) 上記細胞を未同定の外来因子に曝露する手順； c) 上記選択されたプロモーターに関連する細胞の状態を経時的にモニターして、上記細胞のプロファイルを得る手順； d) 上記手順 (a)
10 において提供された、上記プロファイルの中から、上記手順 (c) において得られたプロファイルに対応するプロファイルを決定する手順；および e) 上記未同定の外来因子は、上記決定されたプロファイルに対応する上記既知の外来因子であることを決定する手順、を実行させる。

15 本発明が上述のようにプログラム形態として提供される場合、各々の構成要件は、本発明が方法として提供されるのと同様の詳細なまたは好ましい実施形態を適用して実施することが可能であり、そのような好ましい実施形態の選択は、当業者には容易であり、当業者は、このようなプログラムの好ましい実施形態を、本明細書の記載を参酌して容易に行うことができる。そのようなプログラム
20 の記述形式は、当業者には周知であり、例えば、C++言語などを応用することができる。

別の局面において、本発明は、被検体を診断する方法およびシステムを提供する。この診断方法は、a) 上記被検体の細胞に由来する生物学的因子群から選択される少なくとも 1 つの生物学的因子に関連する細胞の状態を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルを得る工程； b) 上記状態のプロファイル
25 から上記細胞の状態を判定する工程；および c) 上記細胞の状態から上記被検

- 体の状態、障害または疾患を判定する工程、を包含する。この診断方法がシステムとして提供される場合、本発明のシステムは、a) 上記被検体の細胞に由来する生物学的因子群から選択される少なくとも1つの生物学的因子に関連する細胞の状態を経時的にモニターして上記細胞のプロファイルを得る手段；b)
- 5 上記細胞の状態のプロファイルから上記細胞の状態を判定する手段；およびc) 上記細胞の状態から上記被検体の状態、障害または疾患を判定する手段、を備える。このように、本発明は、細胞の種々の状態、生存、分化、薬剤耐性、適切な抗がん剤の選択、適切な移植細胞の選択などのテーラーメイド診断および治療に応用可能である。好ましくは、本発明の診断方法は、診断結果に応じて
- 10 選択した治療または予防を被検体に施す工程を包含する治療または予防方法として提供される。別の好ましい実施形態では、本発明の診断システムは、診断結果に応じて選択した治療または予防を提供する手段を備える、治療または予防システムとして提供される。システム構成例は、図32に示される。

- 本発明の診断方法または治療方法を実行するコンピュータ構成あるいはそれ
- 15 を実現するシステムの例を図17を参照して示す。図17は、本発明の診断方法を実行するコンピュータの500の構成例を示す。システム構成例は、図32に示される。

- コンピュータ500は、入力部501と、CPU502と、出力部503と、メモリ504と、バス505とを備える。入力部501と、CPU502と
- 20 、出力部503と、メモリ504とは、バス505によって相互に接続されている。入力部501と出力部503とは入出力装置506に接続されている。

コンピュータ500によって実行される関連付けの処理の概略を説明する。

- 関連付け方法および／または処置もしくは予防の選択を実行させるプログラム（以下、それぞれ関連付けプログラムおよび選択プログラムという）は、例
- 25 えば、メモリ502に格納されている。あるいは、関連付けプログラムおよび選択プログラムは、それぞれ独立してあるいは一緒に、フロッピーディスク、

MO、CD-ROM、CD-R、DVD-ROMのような任意のタイプの記録媒体に記録され得る。あるいは、アプリケーションサーバに格納されていてもよい。そのような記録媒体に記録された関連付けプログラムおよび／または選択プログラムは、出力装置506（例えば、ディスクドライブ、ネットワーク（例えば、インターネット））を介してコンピュータ500のメモリ504にロードされる。CPU502が関連付けプログラムおよび／または選択プログラムを実行することによって、コンピュータ500は、本発明の関連付け方法および／または選択方法の処理を実行する装置として機能する。

入力部501を介して、プロフィールの分析の結果（例えば、位相など）および細胞の状態に関する情報などを入力する。必要に応じて、プロフィールと関連付けられる状態、障害または疾患などの副次的情報、処置および／または予防に関する情報も入力してもよい。

CPU502は、入力部501で入力された情報をもとに、プロフィールに関する情報と細胞の状態または被検体の状態、障害または疾患に関する情報、および必要に応じて予防または治療方法とを関連付け、メモリ504に関連データを格納する。その後、CPU502は、これらの情報をメモリ504に格納し得る。その後、出力部503は、CPU502が選択した細胞の状態に関する情報、被検体の状態、障害または疾患に関する情報、および必要に応じて予防または治療方法などを診断情報として出力する。出力されたデータは、出力装置506から出力され得る。

（データ生成）

1つの局面において、本発明は、細胞の情報に関するプロフィールデータを生成する方法を提供する。この方法は、a）細胞を支持体上に固定して配置する工程；およびb）該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロフィールのデータを生成する工程；を包含する。この局面の本発明の重要な特徴のひとつは、細胞に関して継続して（例

例えば、経時的に) 同一の情報が得られるように、細胞を実質的に支持体上の同一の箇所に固定することができるようになった点にある。これにより、細胞の生物学的因子およびその集合体の経時的モニターが可能となった。経時的モニターが可能となったことにより、細胞のプロファイルを得ることができ、デジタル細胞を構築することが可能となった。細胞を支持体に固定するために、本発明は、支持体において、例えば、塩のような固定化剤が使用され得る。塩と、正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体と、細胞との組み合わせで支持体に細胞が固定され得る。そのような塩としてはどのようなものでも使用することができ、例えば、塩化カルシウム、リン酸水素ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、ピルビン酸ナトリウム、H E P E S、塩化カルシウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、硫化マグネシウム、硝酸鉄、アミノ酸およびビタミンなどが利用され得るがそれらに限定されない。そのような正に荷電した物質と負に荷電した物質との組み合わせとしては、例えば、DNA、RNA、PNA、ポリペプチド、化学化合物、及びその複合体からなる群より選択される負に荷電した物質と、カチオン性ポリマー、カチオン性脂質、カチオン性ポリアミノ酸及びその複合体からなる群より選択される正に荷電した物質との複合体が挙げられるがそれらに限定されない。本発明において、好ましい実施形態では、対象となる生物学的因子が核酸分子または該核酸分子に由来する分子であり得る。核酸分子は、遺伝情報を司ることが多く、そのような遺伝情報に関し、細胞の情報を得ることができるからである。

別の局面において、本発明は、a) 細胞を支持体上に固定して配置する工程；およびb) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロファイルのデータを生成する工程；を包含する方法によって得られるデータに関する。このようなデータは、従来なかった方法によって得られるデータであり、それ自体新規のものである。従って、本発明は、このようなデータを含む記録媒体を提供する。

別の局面において、本発明は、同一環境にある細胞（好ましくは、複数の細胞）の情報に関するプロフィールデータを生成する方法に関する。この方法は、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上に配置する工程；および
b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロファイルのデータを生成する工程を包含する。この局面の本発明の重要な特徴のひとつは、同一環境にある複数の細胞の情報に関するプロフィールデータを得ることができた点にある。そのような環境を提供する技術もまた、本発明の範囲内にある。同一環境を複数の細胞に提供するために、本発明は、支持体において、例えば、塩のような固定化剤が使用され得る。

塩と、正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体と、細胞との組み合わせで支持体に細胞が固定され得る。そのような塩としてはどのようなものでも使用することができ、例えば、塩化カルシウム、リン酸水素ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、ピルビン酸ナトリウム、H E P E S、塩化カルシウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、硫化マグネシウム、硝酸鉄、アミノ酸およびビタミンなどが利用され得るがそれらに限定されない。そのような正に荷電した物質と負に荷電した物質との組み合わせとしては、例えば、DNA、RNA、PNA、ポリペプチド、化学化合物、及びその複合体からなる群より選択される負に荷電した物質と、カチオン性ポリマー、カチオン性脂質、カチオン性ポリアミノ酸及びその複合体からなる群より選択される正に荷電した物質との複合体が挙げられるがそれらに限定されない。本発明において、好ましい実施形態では、対象となる生物学的因子が核酸分子または該核酸分子に由来する分子であり得る。核酸分子は、遺伝情報を司ることが多く、そのような遺伝情報に関し、細胞の情報を得ることができるからである。

好ましい実施形態において、本発明の方法では、対象となる細胞には、アクチン作用物質が提供されることが好ましい。アクチン作用物質は、細胞内のアクチンに作用し、細胞の内部骨格を変形させて、外部から外来因子を導入する

ことが容易になるという効果を有する。このようなアクチン作用物質の存在により、目的となる外来因子の細胞内での影響を調べることが可能となる。

1 1つの実施形態において、本発明において対象とされる生物学的因子は、核酸、タンパク質、糖鎖、脂質、低分子、それらの複合分子からなる群より選択
5 される少なくとも1つの因子を含む。

好ましい実施形態において、本発明では、対象となる細胞は、モニター前に、ある程度の期間刺激なしで培養することが好ましい。対象となる細胞を同期化するためである。同期化に必要な期間としては、例えば、少なくとも1日間、より好ましくは、少なくとも2日間、さらに好ましくは少なくとも3日間、さ
10 らにより好ましくは少なくとも5日間培養することが有利であり得る。ただし、培養が長くなるにつれ、培養条件を維持する必要性が高くなる。同期化は、各細胞に供給される培地が同一であることが好ましいことから、培養中の培地は、常に同一であるか、あるいは、少なくとも同様に変化していることが好ましい。したがって、好ましくは、そのために、培地を対流させる手段を備え、使用し
15 てもよい。

より好ましい実施形態において、本発明において細胞に提供される生物学的因子は、遺伝子をコードする核酸分子を含み得る。遺伝子をコードする核酸分子は、好ましくは、細胞にトランスフェクトされる。好ましくは、トランスフェクション試薬（遺伝子導入試薬）とともにこのような生物学的因子が提供さ
20 れ得る。さらに好ましくは、遺伝子をコードする核酸分子は、遺伝子導入試薬およびアクチン作用物質とともに細胞に提供され得る。このとき、細胞は、塩と、正に荷電した物質と負に荷電した物質と（ここでは、核酸分子と遺伝子導入試薬と）の複合体とともに提供されることが好ましい。このことにより、細胞および対象となる分子が支持体に固定され、かつ、壁のない状態で別々の生
25 物学的因子（例えば、核酸分子）が細胞内に導入されることが可能となった。壁のない状態で細胞をモニターできることから、実質的に同一の環境下で複数

の細胞をモニターすることが可能となる。しかも、異なる生物学的因子を細胞内に導入することもできることから、そのような生物学的因子によって影響を受ける、細胞の状態のプロファイルを取得することができるようになった。このようなプロファイルは、データとして格納することが可能であり、しかも、

5 そのようなデータは、一定の規格でなされたデータであるから、再現および比較が可能となるという点で、従来の生物学的アッセイで得られた結果とは全く異なる効果を有するといえる。しかも、そのような一定の規格で生成されたデータは、一度格納されると、何度でも多種多様な目的で取り出して使用することができることから、例えば、研究者が種々の解析を行うために、全く同一条件で実質的に無限大の条件の違いを考慮して「仮想実験」を行うことも可能

10 となった。その上、一定の仮想実験および結果が、生の状態を反映した形で格納されていることから、従来、ウェットな仕事でその学生生活の大半をすごさざるを得なかった、生物系の大学生および大学院生が、真の意味でのデータ解析教育を受けることも可能になった。また、このようにして得られた細胞プロファイルデータは、規格化することが容易であるので、世界中で同じ条件で実験を行なったと考えてよいデータをもとに研究を行うことが可能となった。その

15 ようなデータは、規格化された形態で流通されてもよい。そのような規格化された形態は、通常のコンピュータ（例えば、Windows、Mac、UNIX、LINUXなどの通常手に入るOSが装備されたもの）によって読み取り可能な形態であり得る。本発明で生成されるデータは、生成された細胞プロファイルデータ、生成の際に使用した実験条件に関する情報、細胞に関する情報、環境に関する情報などを含み得る。

20

好ましい実施形態において、本発明が対象とするプロファイルは、遺伝子発現のプロファイル、アポトーシスシグナルのプロファイル、ストレスシグナル

25 のプロファイル、分子（好ましくは、蛍光、燐光、放射性物質またはその組み合わせにて標識される）の局在化に関するプロファイル、細胞形態の変化、プ

ロモーターのプロファイル、特定薬剤（例えば、抗生物質、リガンド、毒素、栄養素、ビタミン、ホルモン、サイトカインなど）依存性のプロモーターのプロファイル、分子間相互作用のプロファイルなどを含み得る。ここで、本発明の対象が、特定薬剤依存性のプロモーターのプロファイルを含む実施形態において、本発明は、好ましくはこの特定薬剤を投与するさらに工程を含んでいてもよい。

好ましい実施形態において、本発明は、外来刺激が細胞に提供される工程をさらに包含してもよい。このような外来刺激は、生物学的因子であってもよく、そうでなくてもよい。外来因子は、任意の因子であり得、例えば、物質または他の要素（例えば、電離線、放射線、光、音波などのエネルギー）が挙げられるがそれらに限定されない。

1つの実施形態において、本発明において使用される外来因子は、RNA iを含み得る。RNA iは、実質的に任意の遺伝子の抑制を調べることができることから、存在する遺伝子分だけRNA iを作製してその効果を調べることができる。RNA iは当該分野において周知の方法によって作製することができる。

別の実施形態において、本発明において使用される外来因子は、生体に存在しない化学物質を含み得る。このように生体に存在しない化学物質を、細胞に提供することによって、種々の情報を収集することができる。また、一旦収集されたデータは再利用することができることから、生体に存在しない化学物質がほとんど入手不可能な場合であっても、一旦本発明においてデータを取得することができれば、入手可能性を気にすることなく、研究を続けることが可能となる。

1つの実施形態において、本発明が対象とし得る外来因子は、細胞のレセプターに対するリガンドを含み得る。リガンドを分析することによって、種々のシグナル伝達経路を調査することが可能である。したがって、このような場合、

本発明によって得られるプロファイルは、レセプターリガンド相互作用のプロファイルを含む。

好ましい実施形態において、本発明によって得られるプロファイルは、細胞形態であり、ここで、本発明の方法は、遺伝子の過剰発現、過小発現もしくは
5 ノックダウン、外来因子の添加および環境の変化からなる群より選択され得る刺激を細胞に与える工程をさらに含んでいてもよい。

より好ましい実施形態において、本発明によって得られるプロファイルは、細胞内に存在する分子間の相互作用のプロファイルを含む。このような分子間の相互作用のプロファイルとしては、例えば、シグナル伝達経路において登場
10 する分子と分子との間の相互作用、レセプターとリガンドとの相互作用、転写因子と転写因子配列との相互作用などのプロファイルが挙げられるがそれらに限定されない。

別の好ましい実施形態では、本発明によって得られるプロファイルは、前記細胞内に存在する分子間の相互作用のプロファイルを含み、ここで、本発明は
15 ツーハイブリッド法、FRETおよびBRETからなる群より選択される技術を用いた観察を行う工程をさらに包含する。ここで、ツーハイブリッド法は、分子間相互作用を細胞内において検出する。詳細に関しては、Protein-Protein Interactions, A MOLECULAR CLONING MANUAL, Edited by Erica Golemis, Cold Spring Harbor Laboratory Press,
20 Cold Spring Harbor, New Yorkに記載されている（この文献は、FRETも記載する）。FRETは、分子間、分子内の共鳴エネルギー移動を蛍光波長の変化として検出するという技術であり、Protein-Protein Interactions、前出、Miyawaki A. Visualization of the spatial and temporal dynamics of intracellular signaling. Dev Cell. 2003
25 Mar;4(3):295-305. Reviewに説明されている。BRETは、分子間相互作用アッセイシステムであり、Boute N, The use of resonance energy

transfer in high-throughput screening: BRET versus FRET. Trends Pharmacol Sci. 2002 Aug;23(8):351-4. Review に詳述されている。

1つの好ましい実施形態において、本発明では、対象となる細胞が、支持体上にアレイ状に配置されていることが好ましい。この場合、好ましくは、本発明において対象となる複数の細胞は、各々が最大10cm、より好ましくは、最大1cm、さらに好ましくは、最大1mmもつとも好ましくは、最大0.1mmの間隔をあけて配置され得る。細胞同士は、最低限の間隔をあけることが必要である。そのような間隔は、相互作用をしない程度に保つことが好ましい。

1つの実施形態において、本発明で得られるプロファイルはリアルタイムに得られてもよいが、得られなくてもよい。リアルタイムで得ることが有利であり得る。同時性が重要である場面ではそのようなリアルタイム性は重要である。あるいは、格納することが目的の場合は、必ずしもリアルタイム性は必要ではない。

さらなる実施形態において、本発明は、細胞を固相支持体に固定する工程をさらに包含する。ここで、固体支持体への固定は、塩、複合体、アクチン作用物質などとともに行うことが可能であり得る。

1つの実施形態において、本発明によって生成されるデータは、プロファイルに関する情報を含む。好ましい実施形態では、本発明によって生成されるデータは、モニターにおける条件に関する情報、細胞の状態に関する情報、外来因子に関する情報、環境に関する情報などをさらに含んでもよい。

好ましい実施形態において、本発明においてモニターされる生物学的因子は、少なくとも2種の生物学的因子を含み、より好ましくは、少なくとも3種の生物学的因子を含み、さらに好ましくは、少なくとも8種の生物学的因子を含み得る。あるいは、ある特定の生物学的因子であれば、そのカテゴリーすべて（例えば、嗅覚レセプター、味覚レセプターであれば、存在するすべてのレセプター）を含むことがもつとも好ましい実施形態であり得る。

あるいは、別の好ましい実施形態では、本発明は、このような生物学的因子を任意に選択する工程をさらに包含してもよい。

好ましい実施形態では、本発明が対象とする細胞は、幹細胞および体細胞からなる群より選択され得る。

- 5 1つの実施形態において、本発明において使用される支持体は、固相支持体であることが好ましい。固定することが容易であるからである。そのような固相支持体は、当該分野において公知の任意の物質を材料として使用することができる。ここで、この支持体は、基盤の形態を採っていてもよい。

- 10 1つの実施形態において、本発明では、生物学的因子は核酸であり、この細胞は、該核酸でトランスフェクトされることが有利である。このように核酸でトランスフェクトすることによって、その核酸が細胞に与える影響をリアルタイムであるいは規定化された格納可能な様式でデータとしてプロファイルを収集することが可能となる。このようなことは、従来技術では実現不可能であった。好ましい実施形態では、このトランスフェクトは固相上または液相中で行われ得る。より好ましくは、このトランスフェクトは固相上で行われることが有利である。データ収集および規格化がより容易であるからである。
- 15

- 本発明の好ましい実施形態では、プロファイルの処理は、位相の比較、コントロールプロファイルとの差分計算、信号処理法および多変量解析からなる群より選択される処理により処理され得る。そのように処理されたデータもまた、本発明の範囲内にある。
- 20

- 別の局面において、本発明は、同一環境にある細胞（好ましくは複数の細胞）の情報に関するプロファイルデータを提示方法を提供する。この方法は、a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上に配置する工程；b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロファイルのデータを生成する工程；およびc) 該データを提示する工程、を包含する。
- 25

ここで、複数の細胞を同一環境に保つことができる支持体は、本明細書において別に詳述したとおりに実施することができる。データを生成する工程もまた、本明細書において別に詳述したとおりに実施することができる。データを提示する工程もまた、本明細書において別に詳述したとおりに実施することができる。そのような提示方法としては、例えば、視覚的、聴覚的、嗅覚的、触覚的、味覚的など種々の感覚手段を利用する方法が挙げられるがそれらに限定されない。好ましくは、視覚的な提示手段が利用される。例えば、コンピュータのディスプレイなどが例示され得る。

好ましくは、本発明の提示方法では、提示はリアルタイムで行われ得る。あるいは、格納されたデータを呼び出して遅れて提示されてもよい。リアルタイムで提示が行われるべき場合は、データ信号が直接例えばディスプレイに送信され得る。

別の局面において、本発明は、同一環境にある細胞の状態を判定する方法を提供する。ここで、この方法は、a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上に配置する工程； b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロファイルのデータを生成する工程；および c) 該データから該細胞の状態を判定する工程、を包含する。

ここで、複数の細胞を同一環境に保つことができる支持体は、本明細書において別に詳述したとおりに実施することができる。データを生成する工程もまた、本明細書において別に詳述したとおりに実施することができる。細胞の状態を判定する工程は、例えば、生成されたデータと、細胞に関する情報とを相関付けるか、あるいは、標準的なデータと比較することなどによって判定を行うことができる。この場合、統計学的処理が行われてもよい。

したがって、ある実施形態において、本発明は、本発明によって得られるプロファイルと細胞の状態とを予め相関付ける工程をさらに包含する。判定を円滑に行うためには、好ましくは、本発明において対象とする細胞は、状態が既

知の細胞を含むことが有利である。状態が既知の細胞に関するデータをすでに保持することが可能であることから、その既知細胞と未知細胞とのデータ比較により、判定を迅速に行うことが可能となるからである。

判定の際には、好ましくは、対象となる生物学的因子は、少なくとも2種存在することが有利である。そのような生物学的因子が複数存在するとき、生物学的因子は、異種カテゴリー（例えば、タンパク質および核酸など）であってもよく、同種カテゴリーであってもよい。

好ましくは、本発明は、生物学的因子を任意に選択する工程をさらに包含する。どのような生物学的因子を選択しても、細胞の状態は、ある程度特著付けることができ、場合によっては同定することも可能であることから、本発明は、従来技術からは想像もつかない効果を奏するといえる。

ここで、本発明の判定方法では、好ましくは、データは、リアルタイムで生成される。データがリアルタイムで生成されることにより、未知物質または状態が未知の細胞の判定がリアルタイムで行われ得るからである。

ここで、本発明の判定方法において、対象とされる細胞の状態としては、分化状態、未分化状態、外来因子に対する細胞応答、細胞周期および増殖状態などが挙げられるが、それらに限定されない。

本発明において対象とされる細胞は、幹細胞であっても体細胞であってもよい。体細胞は、どのような細胞であってもよい。細胞の選択は、細胞を使う目的によって当業者が適宜選択することができる。

本発明の判定方法で用いられる固相支持体は、基板を含む。基板とすることで、本発明は、コンピュータシステムの一部としてその基板を使用し、自動的に判定を行うことが可能となる。システム構成例は、図32に示される。

好ましい実施形態において、本発明の判定方法では、生物学的因子は核酸分子であり、前記細胞は該核酸分子でトランスフェクトされる、請求項52に記載の方法。ここで、トランスフェクション技術は、どのような物を利用しても

よいが、好ましくは、遺伝子導入試薬を用いることが有利である。さらに好ましくは、塩、アクチン作用物質などを用いて固相支持体上でトランスフェクトされることが好ましい。トランスフェクトは固相上で行われても液相中で行われてもよいが、好ましくは固相上で行われ得ることが有利である。

- 5 本発明の判定方法では、対象とする生物学的因子は、別の生物学的因子に結合する能力を有するものであってもよい。このような性質を持っている生物学的因子を調べることによって、細胞中のネットワーク機構が解明され得るからである。

- 10 本発明の判定方法でもまた、判定工程は、プロファイルの位相の比較、コントロールプロファイルとの差分収集、信号処理法および多変量解析からなる群より選択される数学処理を行うことを包含し得る。このような処理方法は、当該分野において周知であり、本明細書において詳細に説明されている。

- 15 別の局面において、本発明は、外来因子と、該外来因子に対する細胞の応答とを相関付ける方法を提供する。ここで、この方法は、a) 細胞を、複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上で、外来因子に曝露する工程；b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロファイルのデータを生成する工程；およびc) 該外来因子と、該プロファイルとを相関付ける工程；包含する。ここで、外来因子への曝露は、細胞と外来因子とを接触する環境に配置することによって達成される。例えば、
20 細胞が支持体上に固定されているとき、その支持体上にその外来因子を加えることによって、曝露が達成され得る。データの生成および相関付けの方法もまた、当該分野において周知であり、そのような生成および相関付けの方法として、通常の方法を用いるかそれを組み合わせて使用することができる。統計学的処理を行い、統計学的に有意なデータおよび情報を生成することが好
25 ましい。

好ましい実施形態において、本発明の相関付け方法では、細胞は、支持体に

固定されていてもよい。固定されることによって、データの規格化が容易になり、データ処理が格段に効率化される。

好ましい実施形態において、本発明の相関付け方法では、少なくとも2つの前記外来因子を使用して、各外来因子に対するプロファイルを得る工程をさらに包含し得る。このようなプロファイルを得る技術は、本明細書において充分に説明されている。

より好ましくは、相関付けは、少なくとも2つのプロファイルを類別することにより、該プロファイルに対応する外来因子を類別する工程をさらに包含してもよい。類別化することによって、より規格化されたデータ処理が可能となる。

好ましい実施形態では、本発明において得られるプロファイルはリアルタイムで提示されるが、データの格納を目的とする場合は、特にリアルタイムでなくともよい。

好ましい実施形態では、本発明において使用される細胞は、アレイ上で培養され得る。したがって、そのような場合、細胞は培地で覆われていることが好ましい。培地としては、通常細胞に使用する培地であればどのような培地でも使用され得る。

本発明の好ましい実施形態では、プロファイルのモニターは、前記アレイから画像データを得ることを包含する。特に、プロファイルが、視覚情報（例えば、遺伝子発現による蛍光の発光）である場合は、画像データを得ることによって、プロファイルを得ることが可能になるからである。

本発明の相関付け方法では、外来因子とプロファイルとを相関付ける工程は、前記プロファイルの位相の異同を識別する工程を包含し得る。位相の異動の判別は、本発明がプロファイルを初めて経時的に、かつ、同一環境で提供することによって達成される特徴である。

本発明が対象とする外来因子は、温度変化、湿度変化、電磁波、電位差、可

視光線、赤外線、紫外線、X線、化学物質、圧力、重力変化、ガス分圧および浸透圧からなる群から選択され得る。好ましくは、化学物質は、生体分子、化学合成物または培地であり得る。そのような生体分子としては、例えば、核酸分子、タンパク質、脂質、糖、プロテオリピッド、リポプロテイン、糖タンパク質およびプロテオグリカンなどが挙げられるがそれらに限定されない。生体分子はまた、例えば、ホルモン、サイトカイン、細胞接着因子および細胞外マトリクスなどであってもよい。あるいは、化学物質は、レセプターのアゴニストまたはアンタゴニストであってもよい。

別の局面において、本発明は、細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を同定するための方法に関する。この方法は、a) 細胞に、同一環境を保つことができる支持体上で、複数の既知の外来因子を曝露する工程；b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターし、既知の外来因子の各々に対する該細胞のプロファイルを得て該細胞のプロファイルのデータを生成する工程；c) 該既知の外来因子の各々と、該プロファイルの各々とを相関付ける工程；d) 該細胞を未同定の外来因子に曝露する工程；e) 外来因子に曝露された該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして、未同定の外来因子に関する該細胞のプロファイルを得る工程；f) 該工程（b）で得られたプロファイルの中から、該工程（e）で得られたプロファイルに対応するプロファイルを決定する工程；およびg) 該未同定の外来因子は、該工程（f）において決定されたプロファイルに対応する該既知の外来因子であることを決定する工程；を包含する。ここで、外来因子の曝露、データ生成、相関付け、未同定の外来因子の曝露などは、本明細書において他の場所において詳述されており、当業者はこれらの記述を参照して、目的に応じて適宜適切な形態を選択することができる。

別の局面において、本発明は、細胞のプロファイルから、細胞に与えられた

未同定の外来因子を同定するための方法を提供する。この方法は、a) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体に関し、既知の外来因子と、該既知の外来因子に対応する該細胞のプロファイルとの相関関係に関するデータを提供する工程；b) 該細胞を未同定の外来因子に曝露する工程；c) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして、該細胞のプロファイルを得る工程；d) 該工程（a）において提供された、該プロファイルの中から、該工程（c）において得られたプロファイルに対応するプロファイルを決定する工程；およびe) 該未同定の外来因子は、該決定されたプロファイルに対応する該既知の外来因子であることを決定する工程；を包含する。ここで、外来因子の曝露、データ生成、相関付け、未同定の外来因子の曝露などは、本明細書において他の場所において詳述されており、当業者はこれらの記述を参照して、目的に応じて適宜適切な形態を選択することができる。

別の局面において、本発明は、同一環境にある細胞（好ましくは複数の細胞）の情報に関するプロファイルを得る方法を提供する。この方法は、a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上に配置する工程；およびb) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロファイルを得る工程、を包含する。ここで、外来因子の曝露、データ生成、相関付け、未同定の外来因子の曝露などは、本明細書において他の場所において詳述されており、当業者はこれらの記述を参照して、目的に応じて適宜適切な形態を選択することができる。

別の局面において、本発明は、本発明の細胞プロファイルデータを生成する方法によって生成されたデータが格納される記録媒体に関する。格納形式はどのようなものであってもよく、記録媒体もまた、どのような媒体であってもよい。例えば、そのような記録媒体としては、CD-ROM、フレキシブルディスク、CD-R、CD-RW、MO、ミニディスク、DVD-ROM、DVD

ーR、メモリースティック、ハードディスクなどが挙げられるがそれらに限定されない。本発明はまた、本発明の細胞プロファイルデータを生成する方法によって生成されたデータが格納される伝送媒体に関する。伝送媒体としては、例えば、イントラネット、インターネットなどのネットワークが挙げられるがそれらに限定されない。

本発明の記録媒体または伝送媒体は、前記モニターにおける条件に関する情報、前記プロファイルに関する情報、前記細胞の状態に関する情報および前記生物学的因子に関する情報からなる群より選択される、少なくとも1つの情報に関するデータをさらに含んでもよい。このような情報に関するデータは、相互にリンクされた形態で格納されてもよい。好ましくは、これらのデータは規格化されることが有利である。規格化されることによって、一定の流通経路に載せることが可能になるからである。上記リンクは各々の細胞ごとにリンクされるか、あるいは生物学的因子ごとにリンクされるか、あるいはその両方であつてもよい。

別の局面において、本発明は、本発明の細胞プロファイルデータを生成する方法によって生成されたデータに関する。このようなデータは、従来の技術では生成し得なかったデータであることから、全く新規であるといえる。

別の局面において、本発明は、同一環境にある複数の細胞の情報に関するプロファイルデータを生成するシステムを提供する。このシステムは、a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段；およびc) 該モニター手段から得られた信号から該細胞のプロファイルのデータを生成する手段；を備える。同一環境に保つことができる支持体は、本発明によって初めて提供された技術を用いて当業者が実施することができる。そのような技術とは、細胞を固定化し、壁のない状態で細胞を配列することができることに起因する。モニター手段としては、例えば、顕微鏡（例えば、光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、

位相差顕微鏡など)、電子顕微鏡、スキャナー、肉眼、赤外線カメラ、共焦点・非共焦点顕微鏡、CCD カメラ、などが挙げられるがそれらに限定されない。システム構成例は、図 3 2 に示される。

5 本発明のシステムは、システムとして実施されるときには、細胞を最初から含んでいる必要はないが、好ましくは、複数の細胞が含まれており、かつ、支持体に固定されていることが有利である。そのような場合、固定は、規格化されていることが好ましい。また、固定される場合、細胞間の距離としては、例えば、1 mm などが挙げられるがそれらに限定されない。

10 好ましい実施形態では、支持体には、塩およびアクチン作用物質からなる群より選択される少なくとも 1 つの物質が付着されることが好ましい。このように塩およびアクチン作用物質のいずれか、好ましくは両方が付着されることによって、固定および／または細胞内物質導入の効果が増強されるからである。

本発明のシステムにおいて使用され得るモニター手段としては、光学顕微鏡、
15 蛍光顕微鏡、位相顕微鏡、レーザー光源を用いた読取装置、表面プラズモン共鳴 (SPR) イメージング、電気信号、化学的または生化学的マーカーのいずれかあるいは複数種を用いる手段、放射光、共焦点顕微鏡、非共焦点顕微鏡、微分干渉顕微鏡、実体顕微鏡、ビデオモニターおよび赤外線カメラなどが挙げられるがそれらに限定されない。好ましくは、スキャナー、例えば、白色光源
20 もしくはレーザーによって基盤表面をスキャンするスキャナーを使用する。スキャナーが好ましいのは、蛍光であれば励起エネルギーを効率よく伝達すること、顕微鏡技術を流用することが容易であるという利点があるからである。さらに、細胞に対して大きなダメージを与えることなく測定できるという利点を有するからである。システム構成例は、図 3 2 に示される。

別の局面において、本発明は、同一環境にある細胞 (好ましくは複数の細胞)
25 の情報に関するプロフィールを提示するシステムを提供する。このシステムは、
a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体; b) 該細胞上または該

細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段； c) 該モニター手段から得られた信号から該細胞のプロファイルのデータを生成する手段； および

d) 該データを提示する手段、を包含する。ここで、支持体、モニター手段、
5 データ生成手段については、本明細書において他の場所に記載されるように実施することができる。データを提示する手段もまた、当該分野において周知の手段を利用することができる。そのようなデータ提示手段としては、コンピュータのディスプレイ、スピーカなどが挙げられるがそれらに限定されない。システム構成例は、図 3 2 に示される。

10 本発明の提示システムは、複数の細胞をさらに含み、該複数の細胞は前記支持体に固定されていることが好ましい。このような場合、支持体には、塩およびアクチン作用物質からなる群より選択される少なくとも 1 つの物質が付着される。このような物質が使用されることによって、固定が強化され、および／または外来物質の細胞内導入が増強されるからである。

15 モニター手段は、どのようなものであってもよく、例えば、光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、位相顕微鏡、レーザー光源を用いた読取装置、表面プラズモン共鳴 (SPR) イメージング、電気信号、化学的または生化学的マーカーのいずれかあるいは複数種を用いる手段などであり得る。

データ提示手段は、どのようなものであってもよく、例えば、ディスプレイ、
20 スピーカなどが挙げられる。

別の局面において、本発明は、細胞の状態を判定するシステムを提供する。このシステムは、 a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体； b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段； c) 該モニター手段から得られた信号からデータを生成する手段；
25 および d) 該データから該細胞の状態を外挿する手段、を備える。ここで、支持体、モニター手段およびデータ生成手段は、本明細書において他の場所にお

いて記載したように当業者は実施することができる。データから細胞の状態を
外挿する手段もまた、当該分野において周知の技術を用いて作製し、使用する
ことができる。例えば、測定されたデータと、既知の細胞に関する標準データ
とを比較することによって外挿が達成され、そのような外挿のためのプログラ
ムを格納したデバイスまたはそれを実行することができるコンピュータをその
5 ような外挿手段として使用することができる。システム構成例は、図32に示
される。

別の局面において、本発明は、外来因子と、該外来因子に対する細胞の応答
とを相関付けるシステムを提供する。このシステムは、a) 複数の細胞を同一
10 環境を保つことができる支持体；b) 外来因子を曝露する手段；c) 該細胞上
または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手
段；d) 該モニター手段からの信号から、該細胞のプロファイルのデータを生
成する工程；およびe) 該外来因子と、該プロファイルとを相関付ける手段；
を備える。ここで、支持体、モニター手段、データ生成手段は本明細書におい
15 て他の場所において説明したように実施することができる。外来因子を曝露す
る手段もまた、その外来因子の性質に応じて当業者が適宜設計し、実施するこ
とができる。相関付けの手段もまた、その相関付けのためのプログラムを格納
した記録媒体またはそれを実行することができるコンピュータを利用すること
ができる。好ましくは、本発明のシステムは、複数の細胞を含む。システム構
20 成例は、図32に示される。

別の局面において、本発明は、細胞のプロファイルから、細胞に与えられた
未同定の外来因子を同定するためのシステムを提供する。このシステムは、a)
複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；b) 既知の外来因子を曝露
する手段；c) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経
25 時的にモニターする手段；d) 外来因子の各々に対する該細胞のプロファイル
を得て該細胞のプロファイルのデータを生成する手段；e) 該既知の外来因子

の各々と、該プロファイルの各々とを相関付ける手段； f) 該細胞を未同定の外来因子に曝露する手段； g) 該手段（d）で得られた既知の外来因子のプロファイルと、未知の外来因子のプロファイルとを比較し、既知の外来因子のプロファイルの中から、未知の外来因子のプロファイルに対応するプロファイル
5 を決定する手段であって、該決定された未同定の外来因子は、該決定されたプロファイルに対応する該既知の外来因子である、手段、を備える。ここで、支持体、曝露手段、モニター手段、データ生成手段、相関付け手段、別の曝露手段は、本明細書における他の場所の記載を参酌して、当業者は適宜適切な携帯で実施することができる。また、対応するプロファイルを決

10 そのような決定プロセスを実行するプログラムを格納した記録媒体とそのプログラムを実行するコンピュータとを利用することなどによって、実施することができる。好ましくは、このシステムは、複数の細胞を含む。システム構成例は、図32に示される。

別の局面において、本発明は、細胞のプロファイルから、細胞に与えられた
15 未同定の外来因子を同定するためのシステムを提供する。このシステムは、a) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体に関し、既知の外来因子と、該既知の外来因子に対応する該細胞のプロファイルとの相関関係に関するデータが格納された記録媒体； b) 該細胞を未同定の外来因子に曝露する手段； c) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体； d) 該細胞上ま
20 たは該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段； e) 該モニター手段から得られた信号から、該細胞のプロファイルを得る手段； f) 該記録媒体（a）において格納される該プロファイルの中から、未知の外来因子に関して得られたプロファイルに対応するプロファイルを決

25 定する手段であって、該未同定の外来因子は、該決定されたプロファイルに対応する該既知の外来因子である、手段；を備える。ここで、支持体、曝露手段、モニター手段、データ生成手段、相関付け手段、別の曝露手段は、本明細書における他

の場所の記載を参酌して、当業者は適宜適切な携帯で実施することができる。
また、対応するプロフィールを決定する手段もまた、そのような決定プロセス
を実行するプログラムを格納した記録媒体とそのプログラムを実行するコンピ
ュータとを利用することなどによって、実施することができる。好ましくは、

5 このシステムは、複数の細胞を含む。システム構成例は、図32に示される。

別の局面において、本発明は、複数の細胞の環境を同一に維持することがで
きる支持体に関する。このような支持体は、本発明によって始めて提供された。
このような支持体を利用することによって、複数の細胞の同一環境下での分析
が可能になった。

10 好ましくは、支持体上の細胞は、アレイ状に配置されていることが有利であ
る。規格化された分析が可能となるからである。この場合、塩またはアクチン
作用物質を含むことが好ましい。より好ましくは、正に荷電した物質と負に荷
電した物質との複合体を含むことが有利である。細胞の固定が容易になるから
である。アクチン作用物質は、細胞への外来因子の導入効率を上げることから
15 特に内部を分析する際に好ましい。したがって、本発明の好ましい実施形態で
は、塩およびアクチン作用物質を含み、さらに正に荷電した物質と負に荷電し
た物質との複合体を含むことがさらに好ましい。

本発明の支持体は、細胞が1mmの間隔で配置され得るという特徴を有する。
このような間隔で、壁のない環境を提示することは、従来不可能であった。し
20 たがって、本発明は、驚くべき効果および実用性を有するものである。

好ましい実施形態では、本発明の支持体は、固定された細胞をさらに含んで
提供される。より好ましい実施形態では、本発明の支持体は、固定された生物
学的因子をさらに含んで提供される。

好ましい実施形態では、上記生物学的因子は2種類以上固定される。このよ
25 うな生物学的因子は、核酸分子、タンパク質、糖、脂肪、代謝物、低分子、そ
れらの複合体、ならびに物理的要素および／または時間的要素が入った因子か

らなる群より選択される因子であってもよい。

- より好ましい実施形態において、本発明の支持体には、細胞および生物学的因子が混合して固定される。生物学的因子と細胞とは、ここでは、。相互作用するように配置され得る。そのような相互作用は、生物学的因子によって変動するが、当業者はその性質を見れば、どのように相互作用するかおよびどのように配置すれば相互作用するかを理解することができる。

好ましい実施形態のひとつにおいて、本発明の支持体には、塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体と、アクチン作用物質とが、細胞および生物学的因子とともに固定される。

- より好ましい実施形態では、本発明の支持体には、塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体と、アクチン作用物質とが、細胞および生物学的因子とともにアレイ状に固定される。このような構成をとることによって、細胞プロファイルデータを生成することができる、細胞チップが提供される。この支持体は、好ましくは、塩と、遺伝子導入試薬と、アクチン作用物質と、核酸分子と、細胞とがアレイ状に固定されるという構成を採り、そのような支持体は、「トランスフェクションアレイ」とも呼ばれる。

- ここで、本発明の支持体で使用される塩としては、塩化カルシウム、リン酸水素ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、ピルビン酸ナトリウム、H E P E S、塩化カルシウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、硫化マグネシウム、硝酸鉄、アミノ酸およびビタミンなどが挙げられるがそれらに限定されない。この塩としては、好ましくは、塩化ナトリウムなどが挙げられるがそれらに限定されない。

- 本発明の支持体において使用される遺伝子導入試薬は、カチオン性高分子、カチオン性脂質、ポリアミン系試薬、ポリイミン系試薬、リン酸カルシウム、オリゴフェクタミンおよびオリゴフェクターなどが挙げられるがそれらに限定されない。この遺伝子導入試薬としては、好ましくは、リポフェクトアミン、

オリゴフェクタミンおよびオリゴフェクターが挙げられるがそれらに限定されない。

5 本発明の支持体において使用されるアクチン作用物質としては、フィブロネクチン、ラミニン、ビトロネクチンが挙げられるがそれらに限定されない。このアクチン作用物質としては、好ましくは、フィブロネクチンが挙げられるがそれらに限定されない。

10 本発明の支持体において使用される核酸分子としては、転写制御配列（例えば、プロモーター、エンハンサーなど）、遺伝子コード配列、非翻訳領域を含むゲノム配列、宿主ゲノムにコードされていない核酸配列（蛍光タンパク質遺伝子、大腸菌・酵母自己複製起点、GAL4 ドメイン等）を含む核酸分子が挙げられるがそれらに限定されない。この核酸分子としては、好ましくは、転写制御配列（例えば、プロモーター、エンハンサーなど）、遺伝子コード配列、非翻訳領域を含むゲノム配列が挙げられるがそれらに限定されない。

15 本発明の支持体において使用される細胞としては、幹細胞、樹立細胞株、初代培養細胞、昆虫細胞、細菌細胞が挙げられるがそれらに限定されない。この細胞としては、好ましくは、幹細胞、樹立細胞株、初代培養細胞が挙げられるがそれらに限定されない。

20 本発明の支持体において使用される支持体の材料は、ガラス、シリカ、およびプラスチックなどが挙げられるがそれらに限定されない。この材料としては、好ましくは、コーティングされた上記材料が挙げられるがそれらに限定されない。

25 別の局面において、本発明は、固定された複数の細胞を含み、かつ、該細胞の環境を同一に維持し得る支持体を生産する方法を提供する。この方法は、A) 支持体を提供する工程；およびB) 細胞を塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体を用いて該支持体上に固定する工程、を含む。支持体の提供は、市販のものを入手するか、あるいは、支持体材料を成型することをに

よって達成され得る。支持体材料を調製する必要があるときは、そのような材料の原料の混合などによって調製することができる。固定する工程もまた、当該分野において公知の技術を用いて行うことができるそのような固定技術としては、例えば、インクジェットプリント法、ピンアレイ法、スタンプ法が挙げられるがそれらに限定されない。そのような技術は、周知であり、当業者は適宜そのような技術を用いて実施することができる。

好ましい実施形態において、本発明における固定工程は、前記塩と、前記正に荷電した物質としての遺伝子導入試薬と、アクチン作用物質と、前記負に荷電した物質としての核酸分子と、前記細胞との混合物を、アレイ状に固定することを含む。このような固定は、プリント技術を用いて達成され得る。

別の局面において、本発明は、固定された複数の細胞を含み、かつ、該細胞の環境を同一に維持し得る支持体を生産する装置を提供する。この装置は、A) 支持体を提供する手段；およびB) 細胞を塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体を用いて該支持体上に固定する手段を備える。支持体の提供の実現は、上述の方法を行うことができる手段を用いて達成され得る。そのような手段としては、例えば、支持体の成型手段、材料の調製手段（例えば、混合手段）などが挙げられるがそれらに限定されない。成型手段は、当該分野において周知の技術を使用することができる。固定手段は、プリント手段を含み、そのような手段としては、市販のインクジェットプリンターを利用することが可能である。

(デジタル細胞)

「デジタル細胞」とは、実験対象の細胞に対する少なくとも1つの実験データの集合をいう。これらの実験データは、現実の細胞に対して行った実験の実験条件と実験結果とを関連づけたものである。デジタル細胞は、実験条件が与えられると、その実験条件に関連する実験結果を再現可能なように構成されている。

デジタル細胞を用いると、現実の細胞に対して行った実験の実験結果をコンピュータシステム上で再現することができる。これにより、実験設備を持たない研究機関や個人においても、細胞に関する最先端の研究を行うことが可能になる。その結果、従来はこの分野に参入することが不可能であった異業種からもこの分野に参入することが可能になる。

図33Aは、デジタル細胞のデータ構造の一例を示す。この例では、デジタル細胞は、細胞Aに対する3つの実験データA1、A2、A3の集合として表現されている。

実験データA1、A2、A3のそれぞれは、実験条件を示すパラメータとして細胞パラメータと環境パラメータと刺激パラメータとを含み、実験結果として刺激応答結果を含む。

ここで、細胞パラメータは、実験対象の細胞を特定する。環境パラメータは、細胞パラメータによって特定された細胞を培養する環境を特定する。刺激パラメータは、細胞パラメータによって特定された細胞に与える刺激を特定する。刺激応答結果は、環境パラメータによって特定された環境下で細胞パラメータによって特定された細胞が刺激パラメータによって特定された刺激に対して応答した結果を示す。

実験データA1は、「DMEM」という培地を用いてpH「7」、温度「37」度、CO₂濃度「5」%という培地条件で細胞Aを培養し、「Tet-Off CMV EGF」、「CMV EGFP」というレポーターと「Doxycycline」という化学刺激（薬剤）からなる刺激を細胞Aに与えることにより、刺激応答結果が得られたことを示す。この刺激応答結果は、「細胞動態データ1」と「レポーター計測データ1」とによって表される。

実験データA2は、「DMEM」という培地を用いてpH「7」、温度「37」度、CO₂濃度「5」%という培地条件で細胞Aを培養し、「c-fos」というレポーターと「PSC833」という化学刺激（薬剤）からなる刺激を細胞

Aに与えることにより、刺激応答結果が得られたことを示す。この刺激応答結果は、「細胞動態データ 2」と「レポーター計測データ 2」とによって表される。

実験データ A 3 は、「DMEM」という培地を用いて pH「5」、温度「39」、CO₂濃度「4」%という培地条件で細胞 A を培養し、「CREB」という
5 レポーターと「Vindesine」という化学刺激（薬剤）からなる刺激を細胞 A に与えることにより、刺激応答結果が得られたことを示す。この刺激応答結果は、「細胞動態データ 3」と「レポーター計測データ 3」とによって表される。

このように、実験条件を示すパラメータ（細胞パラメータ、環境パラメータ
10 および刺激パラメータ）と実験結果を示す刺激応答結果とが関連づけられている。これらを関連づけたものを実験データという。デジタル細胞は、実験対象の細胞に対する少なくとも 1 つの実験データの集合として提供される。

図 3 3 B は、デジタル細胞のデータ構造の他の一例を示す。この例は、図 3 3 A に示されるデータ構造を階層化したものである。このようにデジタル細胞
15 のデータ構造を階層化することにより、図 3 3 A に示されるデータ構造に比べて少ないデータ量で同一の内容を表現することが可能になる。

なお、図 3 3 A、図 3 3 B に示される例では、実験条件を示すパラメータと実験結果とは単方向リンク（図中の矢印）によって関連づけられている。しかし、これらを関連づける方法はこれに限定されない。これらを関連づける方法
20 としては任意の方法を採用することができる。

（デジタル細胞の生産）

図 3 4 は、デジタル細胞を生産する処理の手順の一例を示す。この処理は、任意のタイプのコンピュータによって実行される。

ステップ S 3 4 0 1：実験対象の細胞を特定する細胞パラメータが取得される。細胞パラメータの取得は、例えば、ユーザによって入力された細胞パラメータをコンピュータが受け取ることによって行われる。あるいは、実験装置か
25

ら出力されるデータをコンピュータが自動的に収集もしくは解析することによって細胞パラメータを取得するようにしてもよい。

ステップ S 3 4 0 2 : 細胞パラメータによって特定された細胞を培養する環境を特定する環境パラメータが取得される。環境パラメータの取得は、例えば、
5 ユーザによって入力された環境パラメータをコンピュータが受け取ることによって行われる。あるいは、実験装置（例えば、実験環境を計測するセンサなど）から出力されるデータをコンピュータが自動的に収集もしくは解析することによって環境パラメータを取得するようにしてもよい。環境パラメータは、例えば、細胞を培養する培地を示すパラメータと、その培地の条件を示すパラメータ
10 とを含む。培地の条件としては、例えば、培地の pH、温度、CO₂濃度などが挙げられる。

ステップ S 3 4 0 3 : 細胞パラメータによって特定された細胞に与える刺激を特定する刺激パラメータが取得される。刺激パラメータの取得は、例えば、
15 ユーザによって入力された刺激パラメータをコンピュータが受け取ることによって行われる。あるいは、実験装置から出力されるデータをコンピュータが自動的に収集もしくは解析することによって刺激パラメータを取得するようにしてもよい。刺激パラメータは、例えば、レポーターを示すパラメータと、化学刺激を示すパラメータとを含む。

ステップ S 3 4 0 4 : 環境パラメータによって特定された環境下で細胞パラメータによって特定された細胞が刺激パラメータによって特定された刺激に対して応答した結果を示す刺激応答結果が取得される。刺激応答結果の取得は、
20 例えば、実験装置（例えば、実験経過をモニターするモニター装置など）から出力されるデータをコンピュータが自動的に収集もしくは解析することによって行われる。

25 ステップ S 3 4 0 5 : 細胞パラメータと環境パラメータと刺激パラメータと刺激応答結果とが関連づけられる。この関連づけにより、実験対象の細胞に対

する1つの実験データが生成される。このような関連づけは、例えば、図33Aに示されるように単方向のリンクを用いて行われる。しかし、関連づけの方法は問わない。

5 ステップS3406：ステップS3401～ステップS3405が必要に応じて繰り返される。これにより、実験対象の細胞に対する少なくとも1つの実験データが生成される。この少なくとも1つの実験データの集合がデジタル細胞として提供される。

10 デジタル細胞を生産する処理を実行するコンピュータは、デジタル細胞を生産する装置として機能する。生産されたデジタル細胞は、例えば、そのコンピュータがアクセス可能なデータベースに格納される。

15 このように、少なくとも1つの実験データの集合をデジタル細胞として提供することは、複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上に配置する技術が本発明者によって開発されてはじめて可能となった。従来の技術では、複数の細胞を同一環境下に保つことができなかったため、実験条件に信頼性がなく、これらの実験データを集積する意義がなかったからである。この意味で、「デジタル細胞の生産」は、本発明者の技術革新を通してはじめて可能になった先端技術であるというべきである。

（現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスの提供）

20 図35は、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供するコンピュータシステム3501の構成の一例を示す。

 コンピュータシステム3501は、ユーザが所望するサービスをリクエストするサービスリクエスタ3510と、そのリクエストに応答して所定のサービスを提供するサービスプロバイダ3520とを含む。

25 コンピュータシステム3501は、複数のサービスリクエスタ3510を含んでいてもよい。

 サービスプロバイダ3520は、少なくとも1つのデジタル細胞を格納した

データベース 3 5 2 2 にアクセス可能なように構成されている。データベース 3 5 2 2 に格納されたデジタル細胞のデータ構造は、例えば、図 3 3 A、図 3 3 B に示されるとおりである。データベース 3 5 2 2 は、サービスプロバイダ 3 5 2 0 の内部に設けられていてもよいし、サービスプロバイダ 3 5 2 0 の外部に設けられていてもよい。

サービスプロバイダ 3 5 2 0 は、少なくとも 1 つのデジタル細胞をそれぞれ格納した複数のデータベースにアクセス可能なように構成されていてもよい。

サービスリクエスタ 3 5 1 0 およびサービスプロバイダ 3 5 2 0 のそれぞれは、任意のタイプのコンピュータであり得る。

10 サービスリクエスタ 3 5 1 0 とサービスプロバイダ 3 5 2 0 とは、ネットワーク 3 5 3 0 を介して接続されている。ネットワーク 3 5 3 0 は、任意のタイプのネットワークであり得るが、接続の容易性やコストを考慮すると、インターネットであることが最も好ましい。

15 ネットワーク 3 5 3 0 がインターネットである場合には、サービスリクエスタ 3 5 1 0 は、ユーザが操作する Web ブラウザであり得、サービスプロバイダ 3 5 2 0 は、インターネットを介してサービスリクエスタ 3 5 1 0 に接続される Web サーバーであり得る。このような構成をとることにより、世界中のユーザがサービスプロバイダ 3 5 2 0 に容易にアクセスすることが可能になる。

図 3 6 は、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供する処理の手順の一例を示す。この処理は、サービスリクエスタ 3 5 1 0 とサービスプロバイダ 3 5 2 0 とが協働することにより実行される。

25 ステップ S 3 6 0 1 : サービスリクエスタ 3 5 1 0 は、細胞パラメータと環境パラメータと刺激パラメータとを受け取り、細胞パラメータと環境パラメータと刺激パラメータとを含むリクエストを生成する。そのリクエストは、例えば、XML で記述されている。

ステップ S 3 6 0 2 : サービスリクエスタ 3 5 1 0 は、そのリクエストをサ

サービスプロバイダ 3520 に提供する。

5 ステップ S 3603 : サービスプロバイダ 3520 は、そのリクエストに
答してデータベース 3522 を検索し、データベース 3522 内にそのリク
エストに含まれる細胞パラメータと環境パラメータと刺激パラメータとに関連す
る刺激応答結果が存在するか否かを決定する。

10 ステップ S 3604 : データベース 3522 内にそのリクエストに含まれる
細胞パラメータと環境パラメータと刺激パラメータとに関連する刺激応答結果
が存在すると決定された場合には、サービスプロバイダ 3520 は、その刺激
応答結果をサービスリクエスタ 3510 に提供する。その刺激応答結果は、例
えば、XML で記述されている。

ステップ S 3605 : サービスリクエスタ 3510 は、サービスプロバイダ
3520 によって提供された刺激応答結果を表示する。

15 なお、データベース 3522 内にそのリクエストに含まれる細胞パラメータ
と環境パラメータと刺激パラメータとに関連する刺激応答結果が存在しないと
決定された場合には、サービスプロバイダ 3520 は、例えば、「該当なし」と
いう結果をサービスリクエスタ 3510 に提供する。

20 なお、図 36 に示される処理を単一のコンピュータで処理することも可能で
ある。例えば、図 36 に示されるステップ S 3601 ~ S 3605 の処理を単
一のコンピュータによって実行される単一のプログラムで実現すればよい。こ
の場合、その単一のコンピュータは、サービスリクエスタ 3510 の機能とサ
ービスプロバイダ 3520 の機能とを併せ持つ装置として機能する。

25 図 37 は、サービスリクエスタ 3510 に細胞パラメータと環境パラメータ
と刺激パラメータとを入力する入力画面の一例を示す。この例では、これらの
パラメータは、入力画面の所定の領域にユーザがテキストを入力することによ
り入力される。

なお、これらのパラメータをサービスリクエスタ 3510 に入力する方法と

しては任意の方法を採用することができる。例えば、これらのパラメータをユーザがメニュー（例えば、プルダウンメニュー、ポップアップメニュー）を選択することにより入力するようにしてもよい。

5 サービスリクエスト 3510 が刺激応答結果を表示する態様としては任意の態様を採用することができる。例えば、サービスリクエスト 3510 は、刺激応答結果をディスプレイに表示してもよいし、刺激応答結果をプリンタに出力してもよい。サービスリクエスト 3510 は、刺激応答結果を静止画を用いてディスプレイに表示してもよいし、動画を用いてディスプレイに表示してもよい。

10 刺激応答結果は、例えば、細胞上または細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターすることによって得られる細胞のプロファイルのデータを含み得る。この場合には、刺激応答結果として、例えば、図 19 に示されるような細胞のプロファイルのデータがサービスリクエスト 3510 によって表示される。

15 このように、コンピュータシステム 3501 によれば、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供することが可能になる。これにより、実験設備を持たない研究機関や個人においても、細胞に関する最先端の研究を行うことが可能になる。

図 38 は、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供するコンピュータシステム 3801 の構成の一例を示す。

20 コンピュータシステム 3801 は、ユーザが所望するサービスをリクエストするサービスリクエスト 3810 と、そのリクエストに応答して所定のサービスを提供する複数のサービスプロバイダ $3820_1 \sim 3820_N$ と、複数のサービスプロバイダ $3820_1 \sim 3820_N$ が提供可能な少なくとも 1 つのサービスを登録したサービスレジストリ 3840 とを含む。ここで、N は 2 以上の任意の整数である。

コンピュータシステム 3801 は、複数のサービスリクエスタ 3810 を含んでいてもよい。

サービスプロバイダ 3820_i は、少なくとも 1 つのデジタル細胞を格納したデータベース 3822_i にアクセス可能なように構成されている。データベース 3822_i に格納されたデジタル細胞のデータ構造は、例えば、図 33A、図 33B に示されるとおりである。データベース 3822_i は、サービスプロバイダ 3820_i の内部に設けられていてもよいし、サービスプロバイダ 3820_i の外部に設けられていてもよい。ここで、 $i = 1, 2, \dots, N$ である。

なお、サービスプロバイダ 3820_i は、少なくとも 1 つのデジタル細胞をそれぞれ格納した複数のデータベースにアクセス可能なように構成されていてもよい。

サービスレジストリ 3840 は、サービスプロバイダ 3820₁ ~ 3820_N が提供可能なサービスを表すデータを格納したデータベース 3842 にアクセス可能なように構成されている。データベース 3842 は、サービスレジストリ 3840 の内部に設けられていてもよいし、サービスレジストリ 3840 の外部に設けられていてもよい。データベース 3842 にサービスを表すデータを格納することにより、サービスレジストリ 3840 にサービスを登録することができる。データベース 3842 に格納されるデータのフォーマットは予め標準化されていることが好ましい。データベース 3842 へのデータの格納は、サービスレジストリ 3840 を管理する会社が人手で行ってもよいし、サービスプロバイダ 3820₁ ~ 3820_N からネットワーク 3830 を介してサービスレジストリ 3840 にデータを送信することによって行ってもよい。

サービスリクエスタ 3810、サービスプロバイダ 3820₁ ~ 3820_N およびサービスレジストリ 3840 のそれぞれは、任意のタイプのコンピュータであり得る。

サービスプロバイダ 3820₁ ~ 3820_N のそれぞれは、実験設備を持ち現

実の細胞を研究している研究機関、企業または団体によって運営されることが好ましい。サービスリクエスト 3810 およびサービスレジストリ 3840 のそれぞれは、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスの提供を統括する研究機関、企業または団体（例えば、デジタル細胞推進協議会）によって運営されることが好ましい。また、サービスレジストリ 3840 に登録されるサービスの品質を保証するために、サービスプロバイダ 3820₁～3820_Nの運営機関に一定の基準を満たすことを義務づけることが好ましい。

サービスリクエスト 3810 とサービスプロバイダ 3820₁～3820_Nとサービスレジストリ 3840 とは、ネットワーク 3830 を介して接続されている。ネットワーク 3830 は、任意のタイプのネットワークであり得るが、接続の容易性やコストを考慮すると、インターネットであることが最も好ましい。

ネットワーク 3830 がインターネットである場合には、サービスリクエスト 3810 は、インターネットを介してユーザが操作する Web ブラウザに接続される Web サーバーであり得、サービスプロバイダ 3820₁～3820_Nのそれぞれは、インターネットを介してサービスリクエスト 3810 に接続される Web サーバーであり得る。この場合、サービスリクエスト 3810 は、ユーザが操作する Web ブラウザとサービスプロバイダ 3820_iの Web サーバーとを中継するポータル・Web サイトとして機能する。このような構成をとることにより、世界中のユーザがサービスプロバイダ 3820₁～3820_Nに容易にアクセスすることが可能になるとともに、世界中の研究機関や企業がデジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供するビジネスに参画することが可能になる。

図 39 は、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供する処理の手順の一例を示す。この処理は、サービスリクエスト

3810とサービスプロバイダ3820₁～3820_Nとが協働することにより実行される。

5 ステップS3901：サービスリクエスタ3810は、細胞パラメータと環境パラメータと刺激パラメータとを受け取り、細胞パラメータと環境パラメータと刺激パラメータとを含むリクエストを生成する。そのリクエストは、例えば、XMLで記述されている。

10 ステップS3902：サービスリクエスタ3810は、そのリクエストに回答してサービスレジストリ3840を検索し、サービスプロバイダ3820₁～3820_Nの中にそのリクエストのサービスを提供可能なサービスプロバイダ3820_iが存在するか否かを決定する。ここで、iは、1からNのいずれかを示す。

サービスプロバイダ3820₁～3820_Nが提供可能なサービスをサービスレジストリ3840に登録しておく方法としては任意の方法を採用することができる。例えば、サービスプロバイダ3820₁が細胞Aに対する実験結果を再現するサービスを提供可能である場合には、細胞Aを特定する細胞パラメータとサービスプロバイダ3820₁の位置を特定するアドレス（例えば、URL）とをデータベース3842に格納しておけばよい。例えば、サービスプロバイダ3820₂が細胞B、細胞Cに対する実験結果を再現するサービスを提供可能である場合には、細胞B、細胞Cを特定する細胞パラメータとサービスプロバイダ3820₂の位置を特定するアドレス（例えば、URL）とをデータベース3842に格納しておけばよい。あるいは、サービスプロバイダ3820₃が細胞Dに対する特定の実験条件を満たす実験結果を再現するサービスを提供可能である場合には、細胞Dを特定するパラメータとその実験条件を特定するためのパラメータ（例えば、環境パラメータ、刺激パラメータ）とサービスプロバイダ3820₃の位置を特定するアドレス（例えば、URL）とをデータベース3842に格納しておくようにしてもよい。

ステップS3903：サービスプロバイダ3820_i～3820_Nの中にその
リクエストのサービスを提供可能なサービスプロバイダ3820_iが存在する
と決定された場合には、サービスリクエスタ3810は、そのリクエストをサ
ービスプロバイダ3820_iに提供する。サービスプロバイダ3820_iの位置
5 は、サービスレジストリ3840のデータベース3842を参照することによ
って特定され得る。

ステップS3904：サービスプロバイダ3820_iは、そのリクエストに応
答してデータベース3822_iを検索し、データベース3822_i内にそのリク
エストに含まれる細胞パラメータと環境パラメータと刺激パラメータとに関連
10 する該刺激応答結果が存在するか否かを決定する。

ステップS3905：データベース3822_i内にそのリクエストに含まれる
細胞パラメータと環境パラメータと刺激パラメータとに関連する刺激応答結果
が存在すると決定された場合には、サービスプロバイダ3820_iは、その刺激
応答結果をサービスリクエスタ3810に提供する。その刺激応答結果は、例
15 えば、XMLで記述されている。

ステップS3906：サービスリクエスタ3810は、サービスプロバイダ
3820_iによって提供された刺激応答結果を表示する。

なお、データベース3822_i内にそのリクエストに含まれる細胞パラメータ
と環境パラメータと刺激パラメータとに関連する刺激応答結果が存在しないと
20 決定された場合には、サービスプロバイダ3820_iは、例えば、「該当なし」
という結果をサービスリクエスタ3810に提供する。

また、細胞パラメータと環境パラメータと刺激パラメータとをサービスリク
エスタ3810に入力する方法として任意の方法を採用し得ること、サービス
リクエスタ3810が刺激応答結果を表示する態様として任意の態様を採用し
25 得ることは、上述したとおりである。

このように、コンピュータシステム3801によれば、デジタル細胞を用い

て現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供することが可能になる。これにより、実験設備を持たない研究機関や個人においても、細胞に関する最先端の研究を行うことが可能になる。さらに、コンピュータシステム 3801 によれば、複数のサービスプロバイダ 3820₁ ~ 3820_N が提供可能な
5 サービスをサービスレジストリ 3840 に登録することによって、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供するビジネスに参画する機会を世界中の研究機関や企業に与えることが可能になる。

本明細書において引用された、科学文献、特許、特許出願などの参考文献は、その全体が、各々具体的に記載されたのと同じ程度に本明細書において参考と
10 して援用される。

以上、本発明を、理解の容易のために好ましい実施形態を示して説明してきた。以下に、実施例に基づいて本発明を説明するが、上述の説明および以下の実施例は、例示の目的のみに提供され、本発明を限定する目的で提供したのではない。従って、本発明の範囲は、本明細書に具体的に記載された実施形態に
15 も実施例にも限定されず、特許請求の範囲によってのみ限定される。当業者は、以下の実施例から、適宜細胞、支持体、生物学的因子、塩、正に荷電した物質、負に荷電した物質、アクチン作用物質などを選択し、実施することができることが理解される。

20 実施例

以下に実施例を示して本発明をさらに詳しく説明するが、この発明は以下の例に限定されるものではない。以下の実施例において用いられる試薬、支持体などは、例外を除き、Sigma (St. Louis, USA、和光純薬 (大阪、日本)、松浪硝子 (岸和田、日本) などから市販されるものを用いた。

25 (実施例 1 : 試薬)

この実施例において調製したものは以下のとおりである。

アクチン作用物質の候補として、種々の細胞外マトリクスタンパク質およびその改変体もしくはそのフラグメントを準備した。この実施例において調製したものは以下のとおりである。フィブロネクチンなどは、市販のものを用い、フラグメントおよび改変体は、遺伝子操作して改変したものを用いた。

- 5 1) フィブロネクチン (配列番号 11) ;
- 2) フィブロネクチン 29 kDa フラグメント ;
- 3) フィブロネクチン 43 kDa フラグメント ;
- 4) フィブロネクチン 72 kDa フラグメント ;
- 5) フィブロネクチン改変体 (配列番号 11 のうち、152 位のアラニンをロ
10 イシンに変化させたもの) ;
- 6) プロネクチン F (三洋化成、京都、日本) ;
- 7) プロネクチン L (三洋化成) ;
- 8) プロネクチン Plus (三洋化成) ;
- 9) ラミニン (配列番号 6、8 および 10) ;
- 15 10) RGD ペプチド (トリペプチド) ;
- 11) RGD を含んだ 30 kDa ペプチド ;
- 12) ラミニンの 5 アミノ酸 (IKVAV) ;
- 13) ゼラチン。

DNA としてトランスフェクションのためのプラスミドを調製した。プラス
20 ミドとして、pEGFP-N1 および pDsRed2-N1 (ともに BD Biosciences, Clontech、CA、USA) を用いた。これらのプラスミドでは、遺伝子発現はサイトメガロウイルス (CMV) の制御下にある。プラスミド DNA を、E. coli (XL1 blue、Stratgene, TX, USA) 中で増幅し増幅したプラスミド DNA を複合体パート
25 ナーの一方として用いた。DNA は、DNase も RNase も含まない蒸留水中に溶解した。

使用したトランスフェクション試薬は以下の通りである：Effectene Transfection Reagent (cat. no. 301425, Qiagen, CA), TransFast™ Transfection Reagent (E2431, Promega, WI), Tfx™-20 Reagent (E2391, Promega, WI), SuperFect Transfection Reagent (301305, Qiagen, CA), PolyFect Transfection Reagent (301105, Qiagen, CA), LipofectAMINE 2000 Reagent (11668-019, Invitrogen corporation, CA), JetPEI (×4) conc. (101-30, Polyplus-transfection, France) およびExGen 500 (R0511, Fermentas Inc., MD)。トランスフェクション試薬は、上記DNAおよびアクチン作用物質にあらかじめ加えるかあるいはDNAと複合体を先に生成してから使用した。

15 このようにして調製した溶液を以下のトランスフェクションアレイを用いたアッセイに用いた。

（実施例2：トランスフェクションアレイー間葉系幹細胞を用いた実証）

本実施例では、固相におけるトランスフェクション効率の改善を観察した。そのプロトコルを以下に示す。

20 （プロトコル）

DNAの最終濃度は、 $1 \mu\text{g} / \mu\text{L}$ に調整した。アクチン作用物質は、dd H_2O 中で $10 \mu\text{g} / \mu\text{L}$ のストックとして保存した。全ての希釈をPBS、dd H_2O またはダルベッコMEM培地を用いて行った。希釈系列として、例えば、 $0.2 \mu\text{g} / \mu\text{L}$ 、 $0.27 \mu\text{g} / \mu\text{L}$ 、 $0.4 \mu\text{g} / \mu\text{L}$ 、 $0.53 \mu\text{g} / \mu\text{L}$ 、 $0.6 \mu\text{g} / \mu\text{L}$ 、 $0.8 \mu\text{g} / \mu\text{L}$ 、 $1.0 \mu\text{g} / \mu\text{L}$ 、 $1.07 \mu\text{g} / \mu\text{L}$ 、 $1.33 \mu\text{g} / \mu\text{L}$ 、などを調製した。

トランスフェクション試薬は、それぞれの製造業者が提供する指示書に従って、使用した。

プラスミドDNA：グリセロールストックから100mLのL-amp中で一晩増殖させ、Qiaprep MiniprepまたはQiagen Plasmid Purification Maxiを用いて製造業者が提供する標準プロトコールによって精製した。

本実施例では、以下の5種類の細胞を利用して、効果を確認した：ヒト間葉系幹細胞 (hMSCs、PT-2501、Cambrex BioScience Walkersville, Inc., MD)、ヒト胚性腎細胞 (HEK 293、RCB1637、RIKEN Cell Bank, JPN)、NIH 3T3-3細胞 (RCB0150、RIKEN Cell Bank, JPN)、HeLa細胞 (RCB0007、RIKEN Cell Bank, JPN) およびHepG2 (RCB1648、RIKEN Cell Bank, JPN)。これらは、L-glutおよびpen/strepを含むDMEM/10% IFS中で培養した。

(希釈およびDNAのスポット)

トランスフェクション試薬とDNAとを混合してDNA-トランスフェクション試薬複合体を形成させる。複合体形成にはある程度の時間が必要であることから、上記混合物を、アレイ作製機 (arrayer) を用いて固相支持体 (例えば、ポリ-レーリジンスライド) にスポットした。本実施例では、固相支持体として、ポリ-レーリジンスライドのほか、APSスライド、MASスライド、コーティングなしのスライドを用いた。これらは、松浪硝子 (岸和田、日本) などから入手可能である。

複合体形成およびスポット固定のために、真空乾燥機中で一晩スライドを乾燥させた。乾燥時間の範囲は、2時間から1週間とした。

アクチン作用物質は、上記複合体形成時に使用してもよいが、本実施例では、

スポッティングの直前に使用する形態も試験した。

(混合液の調製および固相支持体への適用)

エッペンドルフチューブに、 $300\mu\text{L}$ のDNA濃縮緩衝液 (EC緩衝液) + $16\mu\text{L}$ のエンハンサーを混合した。これをボルテックスによって混合し、
5 5分間インキュベートした。 $50\mu\text{L}$ のトランスフェクション試薬 (Effeneなど) を加え、そしてピペティングによって混合した。トランス
フェクション試薬を適用するために、スライドのスポットのまわりにワックス
環状バリアーを引いた。スポットのワックスで囲まれた領域に $366\mu\text{L}$ の混
合物を加え、室温で10から20分間インキュベートした。これにより、支持
10 体への手動による固定が達成された。

(細胞の分配)

次に、細胞を添加するプロトコルを示す。トランスフェクトのために細胞を
分配した。この分配は、通常、フード内で試薬を減圧吸引して行った。スライ
ドを皿に置き、そしてトランスフェクションのために細胞を含む溶液を加えた。
15 細胞の分配は、以下のとおりである。

細胞の濃度が 25mL 中 10^7 細胞になるように、増殖中の細胞を分配した。
四角の $100\times 100\times 15\text{mm}$ のペトリ皿または半径 $100\text{mm}\times 15\text{mm}$
の円形ディッシュ中で、スライド上に細胞をプレーティングした。約40時間、
トランスフェクションを進行させた。これは、約2細胞周期にあたる。免疫蛍
20 光のためにスライドを処理した。

(遺伝子導入の評価)

遺伝子導入の評価は、例えば、免疫蛍光、蛍光顕微鏡検査、レーザー走査、
放射性標識および感受性フィルムまたはエマルジョンを用いた検出によって達
成した。

25 可視化されるべき発現されたタンパク質が蛍光タンパク質であるなら、それ
らを蛍光顕微鏡検査で見てそして写真を撮ることができる。大きな発現アレイ

に関しては、スライドをデータ保存のためにレーザースキャナーで走査し得る。発現されたタンパク質を蛍光抗体が検出し得るなら、免疫蛍光のプロトコールを引き続いて行うことができる。検出が放射能に基づくなら、スライドを上記で示したように付着し得、そしてフィルムまたはエマルジョンを用いたオートラジオグラフィーによって放射能を検出することができる。

(レーザー走査および蛍光強度定量)

トランスフェクション効率を定量するために、本発明者らは、DNAマイクロアレイスキャナ (GeneTAC UC4×4、Genomic Solutions Inc., MI) を使用した。総蛍光強度 (任意の単位) を測定した後、表面積あたりの蛍光強度を計算した。

(共焦点顕微鏡による切片観察)

使用した細胞を、組織培養ディッシュに最終濃度 1×10^5 細胞/ウェルで播種し、適切な培地を用いて (ヒト間葉系細胞の場合ヒト間葉系細胞基本培地 (MSCGM、BulletKit PT-3001、Cambrex Bioscience Walkersville, Inc., MD, USA) を用いた) 培養した。細胞層を4%パラホルムアルデヒド溶液で固定した後、染色試薬であるSYTOおよびTexas Red-Xファロイジン (Molecular Probes Inc., OR, USA) を細胞層に添加して、核およびFアクチンを観察した。遺伝子産物によって発色するサンプルまたは染色されたサンプルを共焦点レーザー顕微鏡 (LSM510、Carl Zeiss Co., Ltd、ピンホールサイズ=Ch1=123 μm 、Ch2=108 μm ; 画像間隔=0.4) を用いて、切片像を得た。

(結果)

図1に一例としてHEK293細胞を用いた場合の種々のアクチン作用物質およびコントロールとしてのゼラチンを用いた結果を示す。

結果から明らかなように、ゼラチンを用いた系ではトランスフェクションが

あまり成功していないのに対して、フィブロネクチン、フィブロネクチンの改変体であるプロネクチン（プロネクチンF、プロネクチンL、プロネクチンP1 u s）およびラミニンでは、顕著にトランスフェクションが起こっていた。従って、このような分子は、トランスフェクション効率を顕著に上昇させることが実証された。R G Dペプチド単体では、その効果はほとんど見えなかった。

図2および3に、フィブロネクチンのフラグメントを用いた場合のトランスフェクション効率の結果を示す。図4にその結果をまとめた図を示す。29 k D aおよび72 k D aのフラグメントは、トランスフェクション活性が顕著に示され、43 k D aフラグメントは、活性はあるものの、その程度は、低かった。従って、29 k D aに含まれるアミノ酸配列がトランスフェクション効率の上昇に役割を果たしていることが示唆される。29 k D aフラグメントは、夾雑がほとんど見られなかったのに対して、他の二つのフラグメント（43 k D aおよび72 k D a）では、夾雑が見られた。従って、29 k D aドメインのみをアクチン作用物質として使用することが好ましくあり得る。また、R G Dペプチドのみではトランスフェクション効率上昇活性は示されなかったが、これをつけた30 k D aのペプチドでは活性が見られた。また、ラミニンの6アミノ酸をつけ高分子量にした系でもトランスフェクション活性が見られた。従って、これらのペプチド配列もまた、トランスフェクション効率上昇活性において重要な役割を果たし得るがそれに限定されない。このような場合、少なくとも5 k D a、好ましくは少なくとも10 k D a、より好ましくは少なくとも15 k D aの分子量を含むことがトランスフェクション効率上昇に必要であり得る。

次に、種々の細胞におけるトランスフェクション効率を調べた結果を図5に示す。図5では、従来トランスフェクションが可能な細胞としてH E K 2 9 3細胞、H e L a細胞、3 T 3細胞、ならびに従来トランスフェクションがほとんど不可能といわれていたH e p G 2細胞および間葉系幹細胞（M S C）を用

いた本発明のトランスフェクション方法の効果を示す。縦軸にはGFPの強度を示した。

図5では、本発明の固相支持体を用いたトランスフェクション法との比較対照として、従来の液相トランスフェクション法を示した対比した。従来型の液相トランスフェクションの方法は、キットを製造する製造会社の推奨する方法に従って行った。

図5から明らかなように、従来トランスフェクション可能とされていたHEK293、HeLa、3T3はもちろん、トランスフェクション不可能とされていたHepG2およびMSCでも、HeLaおよび3T3に匹敵するトランスフェクション効率が達成された。このような効果は、従来のトランスフェクション系では決して達成されなかったことであり、事実上すべての細胞についてトランスフェクション効率を上昇させることができ、実用に耐え得るトランスフェクションをすべての細胞に提供する系が史上初めて提供されたことになる。また、固相条件を採用したことによって、相互夾雑も顕著に減少した。従って、固相支持体を使用する場合本発明は、集積化バイオアレイを製造するために適切な方法であることが実証された。

次に図6として、種々のプレートを用いた場合のトランスフェクションの状態を示す結果を提供する。図6の結果からも明らかなように、コーティングをした場合、コーティングをしていない場合よりも夾雑が少なくなっており、トランスフェクション効率も上昇しているようであることが明らかになった。

次に、図7として、フィブロネクチンの濃度を0、0.27、0.53、0.8、1.07および1.33（それぞれ $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ）としてトランスフェクションを行った場合の結果を示す。図7では、PLL（ポリ-L-リジン）およびAPSでコーティングされたスライドおよびコーティングされていないスライドについて示す。

図7の結果から明らかなように、トランスフェクション効率は、フィブロネ

クチン濃度の上昇に伴って上昇することが明らかになった。ただし、PLLコーティングおよびコーティングなしの場合には、 $0.53 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ を超えると効率がプラトーに達していることがわかる。他方、APSの場合は、 $1.07 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ を超えても効果の上昇が見られた。

- 5 次に図8として、フィブロネクチンの有無での、細胞接着プロファイルを示す写真を示す。図9には、切片写真を示す。接着細胞の形状は、顕著に異なることが明らかになった(図8)。細胞培養の最初の3時間で、フィブロネクチン有の方は、細胞が完全に伸展したのに対して、フィブロネクチン無のほうは、伸展が限られていた(図9)。アクチンフィラメントの挙動を観察した図9の結果について経時的に観察した結果を勘案すると、固相支持体上に沈着したフィ
- 10 ブロネクチンのようなアクチン作用物質がアクチンフィラメントの形状および方向に影響を与え、トランスフェクション効率などの物質の細胞への導入効率を上昇させるものと考えられる。具体的には、フィブロネクチンの存在下では、アクチンフィラメントは、迅速に配置転換し、細胞伸展とともに核の下にある
- 15 細胞質空間から消失する。フィブロネクチンのようなアクチン作用物質によって誘導される核周辺のアクチン枯渇によって、DNAなどの標的物質が細胞内および必要に応じて核内へ移行すると考えられる。理論に束縛されないが、これは、細胞質の粘性の低下および正に荷電したDNA粒子が負に荷電したアクチンフィラメントに捕捉されることを防止するという効果に起因すると考えら
- 20 れる。また、核の表面積は、フィブロネクチン存在下で顕著に拡大することから(図10)、DNAなどの標的物質の核への移行が容易になるものと考えられる。

(実施例3：バイオアレイへの応用)

- 次に、上述の効果がアレイを用いた場合でも実証されるかどうかを確認する
- 25 ために規模拡大して実験を行った。

(実験プロトコル)

(細胞供給源、培養培地、および培養条件)

この実施例では、5種類の異なる細胞株を使用した：ヒト間葉系幹細胞 (hMSC、PT-2501、Cambrex BioScience Walkersville, Inc., MD)、ヒト胚性腎細胞HEK293 (RCB1
5 637、RIKEN Cell Bank, JPN)、NIH3T3-3 (RCB0150、RIKEN Cell Bank, JPN)、HeLa (RCB0007、RIKEN Cell Bank, JPN)、およびHepG2 (RCB1648、RIKEN Cell Bank, JPN)。ヒトMSC細胞の場合、この細胞を、市販のヒト間葉細胞基底培地 (MSCGM BulletK
10 it PT-3001, Cambrex BioScience Walkersville, Inc., MD) 中で維持した。HEK293細胞、NIH3T3-3細胞、HeLa細胞およびHepG2細胞の場合、これらの細胞を、10% ウシ胎仔血清 (FBS、29-167-54、Lot No. 2025F、Dainippon Pharmaceutical CO., LTD.,
15 JPN) を有するダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM、L-グルタミンおよびピルビン酸ナトリウムを有する高グルコース (4.5 g/L); 14246-25、Nakalai Tesque, JPN) 中で維持した。全ての細胞株を、37℃、5% CO₂に制御されたインキュベーター中で培養した。hMSCを含む実験において、本発明者らは、表現型の変化を回避するために、5
20 継代未満のhMSCを使用した。

(プラスミドおよびトランスフェクション試薬)

トランスフェクションの効率を評価するために、pEGFP-N1ベクターおよびpDsRed2-N1ベクター (カタログ番号6085-1、6973-1、BD Biosciences Clontech, CA) を使用した。
25 共に遺伝子発現は、サイトメガロウイルス (CMV) プロモーターの制御下であった。トランスフェクトされた細胞は、それぞれ、連続的にEGFPまたは

DsRed2を発現した。プラスミドDNAを、Escherichia coli、XL1-blue株(200249, Stratagene, TX)を使用して増幅し、そしてEndoFree Plasmid Kit (EndoFree Plasmid Maxi Kit 12362, QIAGEN, CA)によって精製した。全ての場合において、プラスミドDNAを、DNaseおよびRNaseを含まない水に溶解した。トランスフェクション試薬は以下のようにして得た: Effectene Transfection Reagent (カタログ番号301425, Qiagen, CA)、TransFast™ Transfection Reagent (E2431, Promega, WI)、Tfx™-20 Reagent (E2391, Promega, WI)、SuperFect Transfection Reagent (301305, Qiagen, CA)、PolyFect Transfection Reagent (301105, Qiagen, CA)、LipofectAMINE 2000 Reagent (11668-019, Invitrogen corporation, CA)、JetPEI (×4) conc. (101-30, Polyplus-transfection, France)、およびExGen 500 (R0511, Fermentas Inc., MD)。

(固相系トランスフェクションアレイ (SPTA) 生成)

「リバーストランスフェクション」についてのプロトコルの詳細は、ウェブサイト http://staffa.wi.mit.edu/sabatini_public/reverse_transfection.htm の「Reverse Transfection Homepage」に記載されていた。本発明者らの固相系トランスフェクション (SPTA方法) において、疎水性フッ素樹脂コーティングによって分離した48平方パターン (3mm×3mm) を有する3つの型のスライドガラス (シラン処理したスライドガ

ラス；APSスライド、およびポリ-L-リジンでコーティングしたスライドガラス；PLLスライド、およびMASでコーティングしたスライド；Matsunami Glass Ind., LTD., JPN) を研究した。

(プラスミドDNAプリンティング溶液の調製)

- 5 SPTAを生成するための2つの異なる方法を開発した。その主な違いは、プラスミドDNAプリンティング溶液の調製にある。

(方法A)

- Effectene Transfection Reagentを使用する場合、プリンティング溶液は、プラスミドDNAおよび細胞接着分子 (4 mg/mLの濃度で超純水に溶解したウシ血漿フィブロネクチン (カタログ番号 16042-41、Nakalai Tesque, JPN)) を含んだ。上記の溶液を、インクジェットプリンタ (synQUAD™, Cartesian Technologies, Inc., CA) を用いてか、または手動で0.5~10 μLチップを用いて、スライドの表面に適用した。このプリントしたスライドガラスを安全キャビネットの内側で室温にて15分間かけて乾燥させた。トランスフェクションの前に、総Effectene試薬を、DNAプリントしたスライドガラス上に静かに注ぎ、そして室温にて15分間インキュベートした。過剰のEffectene溶液を、吸引アスピレーターを用いてスライドガラスから除去し、そして安全キャビネットの内側で室温にて15分間かけて乾燥させた。得られたDNAプリントしたスライドガラスを、100 mm培養ディッシュの底に置き、そして約25 mLの細胞懸濁液 ($2 \sim 4 \times 10^4$ 細胞/mL) を、このディッシュに静かに注いだ。次いで、このディッシュを37℃、5% CO₂のインキュベーターに移し、2~3日間インキュベートした。

- 25 (方法B)

他のトランスフェクション試薬 (TransFast™, Tfx™-2

0、SuperFect、PolyFect、LipofectAMINE 2000、JetPEI (×4) conc. またはExGen) の場合、プラスミドDNA、フィブロネクチン、およびトランスフェクション試薬を、製造業者が配布する指示書に示される比率に従って1.5 mLのマイクロチューブ
5 中で均一に混合し、そしてチップ上にプリンティングする前に室温にて15分間インキュベートした。プリンティング溶液を、インクジェットプリンターまたは0.5~10 µLチップを用いてスライドガラスの表面上に適用した。このプリントしたスライドガラスを、安全キャビネットの内側で室温にて10分間かけて完全に乾燥させた。プリントしたスライドガラスを100 mm培養デ
10 ィッシュの底に置き、そして約3 mLの細胞懸濁液 ($2 \sim 4 \times 10^4$ 細胞/mL) を添加し、安全キャビネットの内側で室温にて15分間にわたってインキュベートした。インキュベーション後、新鮮な培地をこのディッシュに静かに注いだ。次いで、このディッシュを37°C、5% CO₂のインキュベーターに移し、2~3日間インキュベートした。インキュベーション後、本発明者らは、蛍光
15 顕微鏡 (IX-71、Olympus PROMARKETING, INC., JPN) を用いて、増強された蛍光タンパク質 (EGFP、EGFP、およびDsRed2) の発現に基づいてトランスフェクト体を観察した。位相差画像を同じ顕微鏡を用いて撮った。両プロトコルにおいて、細胞をパラホルムアルデヒド (PFA) 固定方法 (PBS中の4% PFA、処理時間は、室温にて1
20 0分間) を用いることによって固定した。

(レーザー走査および蛍光強度定量)

トランスフェクション効率を定量するために、本発明者らは、DNAマイクロアレイスキャナ (GeneTAC UC4×4、Genomic Solutions Inc., MI) を使用した。総蛍光強度 (任意の単位) を測定し
25 た後、表面積あたりの蛍光強度を計算した。

(結果)

(フィブロネクチン支持局所的トランスフェクション)

トランスフェクションアレイチップを、図11に示されるように構築した。トランスフェクションアレイチップは、PLLコーティングされたスライドガラス上でDNA／トランスフェクション試薬およびフィブロネクチンを含む細胞培養液をマイクロプリントすることによって構築した。

種々の細胞をこの実施例において用いた。これらの細胞は、通常使用される培養条件で培養した。これらの細胞はスライドガラスに付着することから、細胞は、効率よく取り込まれ、そしてアレイ上に与えられた位置でプリントされたDNAに対応する遺伝子を発現した。通常のトランスフェクション方法（例えば、カチオン性脂質またはカチオン性高分子媒介トランスフェクション）と比較すると、本発明の方法を用いた場合のトランスフェクション効率は、いずれも顕著に高かった。特に、トランスフェクトすることが困難とされていたHepG2、hMSCなどのような組織幹細胞でも、効率よくトランスフェクトされることが見出されたことは、特に重要である。hMSCの場合には、従来方法の約40倍以上の効率上昇が見られた。また、高密度アレイに必要な高い集積度も達成された（すなわち、アレイ上で隣接するスポット同士の間の夾雑が顕著に減っていた）。これは、EGFPおよびDs-REDのチェック状パターンのアレイを生成することによって確認した。ヒトMSCをこのアレイにおいて培養し、実質的にすべての空間解像度が示されるように対応する蛍光タンパク質を発現させた。その結果図12に示されるように、ほとんど夾雑していないことが明らかになった。プリント混合物の個々の成分の役割に関するこの研究に基づいて、種々の細胞に関して、トランスフェクション効率の最適化を行うことができる。

(フィブロネクチンによる局所的トランスフェクションにおける効率化)

本発明者らの上述してきたデータを総合すると、フィブロネクチンなどの接着因子または細胞外マトリクスタンパク質と称されていたタンパク質は、細胞

接着活性以外の活性を有することが明らかになった。そのような活性としては、種々の細胞によって異なるが、これらの活性は、トランスフェクション効率の上昇に参与していることがわかる。なぜなら、フィブロネクチンの有無で接着の様子を調べた結果（図8）によると、接着の状態自体は差異が見られなかったからである。

（ヒト間葉系幹細胞の固相系トランスフェクションアレイ）

多様な種類の細胞に分化するヒト間葉系幹細胞（hMSC）の能力は、組織再生および組織復活を標的化する研究にとって特に興味深いものになっている。特に、これらの細胞の形質転換についての遺伝子解析は、hMSCの多能性を制御する因子を解明する上で、関心が高まっている。hMSCの研究は、所望の遺伝物質を用いたトランスフェクションが不可能な点にある。

これを達成するために、従来の方法は、ウイルスベクターまたはエレクトロポレーションのいずれかの技術を含む。本発明者らが開発した複合体一塩という系を用いることにより、種々の細胞株（hMSCを含む）に対して高いトランスフェクション効率ならびに密集したアレイ中での空間的な局在の獲得を可能にする固相系トランスフェクションが達成された。固相系トランスフェクションの概略を、図13Aに示す。

固相系トランスフェクションにより、インビボ遺伝子送達のために使用され得る「トランスフェクションパッチ」の技術的な達成ならびにhMSCにおける高スループットの遺伝子機能研究のための固相系トランスフェクションアレイ（SPTA）が可能になることが判明した。

哺乳動物細胞をトランスフェクトするための多数の標準的な方法が存在するが、遺伝物質のhMSCへの導入については、HEK293、HeLaなどの細胞株を比較して不便かつ困難であることが知られている。従来使用されるウイルスベクター送達またはエレクトロポレーションのいずれも重要であるが、潜在的な毒性（ウイルス方法）、ゲノムスケールでの高スループット分析を受け

にくいこと、およびインビトロ研究に対して制限された適用性（エレクトロポレーションに関して）のような不便さが存在する。

固相支持体に簡便に固定することができ、かつ徐放性および細胞親和性を保持した固相支持体固定系が開発されたことにより、これらの欠点のほとんど克服することができた。

上述の実験の結果の一例を、図 1 3 B に示す。マイクロプリンティング技術を使用する本発明者らの技術を用いて、選択された遺伝物質、トランスフェクション試薬および適切な細胞接着分子、ならびに塩を含む混合物を、固体支持体上に固定化し得た。混合物を固定化した支持体の上での細胞培養は、その培養細胞に対する、混合物中の遺伝子の取り込みを可能にした。その結果、支持体一接着細胞における、空間的に分離した DNA の取り込みを可能にした（図 1 3 B）。

本実施例の結果、いくつかの重要な効果が達成された：高いトランスフェクション効率（その結果、統計学的に有意な細胞集団が研究され得る）、異なる DNA 分子を支持する領域間の低い相互夾雑（その結果、個々の遺伝子の効果が、別々に研究され得る）、トランスフェクト細胞の長期生存、高スループットの互換性のある形式および簡便な検出方法。これらの基準を全て満たす SPTA は、さらなる研究のための適切な基盤となる。

これらの目的の達成を明確に確立するために、上述のように本発明者らは、5 種類の異なる細胞株（HEK 2 9 3、HeLa、NIH 3 T 3、Hep G 2 および hMSC）を、本発明者らの方法論（固相系でのトランスフェクション）（図 1 3 A および図 1 3 C を参照のこと）および従来の液相系トランスフェクションの両方を用いて一連のトランスフェクション条件下で研究した。SPTA の場合、相互夾雑を評価するために、本発明者らは、チェック模様のパターンでガラス支持体上にプリントした赤色蛍光タンパク質（RFP）および緑色蛍光タンパク質（GFP）を使用し、一方、従来の液相系トランスフェクシ

ンを含む実験の場合（ここで、本来、トランスフェクト細胞の自発的な空間的分離は達成され得ない）、本発明者らは、GFPを使用した。いくつかのトランスフェクション試薬を評価した：4つの液体トランスフェクション試薬（Effectene、TransFastTM、TfxTM-20、LopofectAMINE 2000）、2つのポリアミン（SuperFect、PolyFect）、ならびに2つの型のポリイミン（JetPEI（×4）およびExGen 500）。

トランスフェクション効率：トランスフェクション効率を、単位面積あたりの総蛍光強度として決定した（図14A。図14Bはそのイメージを示す。）。

使用した細胞株に従って、最適な液相の結果を、異なるトランスフェクション試薬を用いて得た（図14C-Dを参照のこと）。次いで、これらの効率的なトランスフェクション試薬を、固相系プロトコルの最適化に使用した。いくつかの傾向が観察された：容易にトランスフェクト可能な細胞株（例えば、HEK293、HeLa、NIH3T3）の場合、固相系プロトコルで観察されたトランスフェクション効率は、標準的な液相系プロトコルと比較してわずかに優れていたが、本質的に類似したレベルで達成されている（図14）。

しかし、細胞をトランスフェクトするのが困難な場合（例えば、hMSCおよびHepG2）においてSPTA方法論に最適化した条件を用いることによって、本発明者らは、細胞の特徴を維持しながら、トランスフェクション効率が40倍まで増加したことを観察した（上述のプロトコルおよび図14C-Dを参照のこと）。hMSCの特定の場合（図15）、最良条件は、ポリエチレンイミン（PEI）トランスフェクション試薬の使用を含んだ。予想したように、高いトランスフェクション効率を実現するための重要な因子は、ポリマー内の窒素原子（N）の数とプラスミドDNA内のリン酸残基（P）の数との間の電荷バランス（N/P比率）、ならびにDNA濃度である。一般的に、N/P比率および濃度における増大は、トランスフェクション効率の増大を生じる。並行

して、本発明者らは、hMSCの溶液トランスフェクション実験における高いDNAおよび高いN/P比率の場合に、細胞生存率の有意な低下を観察した。これら2つの拮抗因子に起因して、hMSCの液相系トランスフェクションの効率は、かなり悪い非常に低い細胞生存率（N/P比率>10で観察された）

5 であつた。しかし、SPTAプロトコルは、細胞生存率にも細胞形態にも有意に影響を与えることなく、非常に高い（固体支持体に固定された）N/P比率およびDNA濃度を許容し（おそらく、細胞膜に対する固体支持体の安定化効果に起因する）、従って、このことがおそらく、トランスフェクション効率の劇的な改善の原因となっている。SPTAの場合、10のN/P比率が最適であることが見出され、細胞毒性を最小化しながら十分なトランスフェクションレ
10 ベルを提供する。SPTAプロトコルにおいて観察されたトランスフェクション効率の増大に関するさらなる理由は、高い局所的なDNA濃度／トランスフェクション試薬濃度（これは、液相系トランスフェクション実験において使用される場合は細胞死を生成する）の達成である。

15 チップ上での高いトランスフェクション効率の達成のための重要な点は、使用されるコーティング剤である。ガラス製のチップを用いた場合、PLLが、トランスフェクション効率および相互夾雑の両方に関して、最良の結果を提供することを発見した（下記に考察する）。フィブロネクチンコーティングしない場合、少数のトランスフェクト体を観察した（他のすべての実験条件は一定に
20 保った）。完全に確立したわけではないが、フィブロネクチンの役割はおそらく、細胞接着プロセスを加速し（データは示していない）、ゆえに、表面を離れたDNA拡散が可能になる時間を制限するということである。

低い相互夾雑：SPTAプロトコルで観察されたより高いトランスフェクション効率は別として、本技術の重要な利点は、別個に分離された細胞アレイの
25 実現であり、その各位置では、選択した遺伝子が発現する。本発明者らは、フィブロネクチンでコーティングしたガラス表面上に、JetPEI（「実験プロ

トコル」を参照のこと) およびフィブロネクチンと混合した2つの異なるレポーター遺伝子(RFPおよびGFP)をプリントした。得られたトランスフェクションチップを適切な細胞培養に提供した。最良であると思出された実験条件下において、発現されたGFPおよびRFPは、それぞれのcDNAがスポットされた領域に局在した。相互夾雑はほとんど観察されなかった(図16)。しかし、フィブロネクチンまたはPLLの非存在下において、固相でのトランスフェクションの障害となる相互夾雑が観察され、そしてトランスフェクション効率は、有意に低かった(図6を参照)。このことは、細胞接着および支持体表面から離れて拡散するプラスミドDNAの相対的な割合が、高いトランスフェクション効率および高い相互夾雑の両方に対して重要な因子であるという仮説を立証する。

相互夾雑のさらなる原因は、固体支持体上のトランスフェクション細胞の移動性であり得る。本発明者らは、数個の支持体上での細胞接着速度(図16C)およびプラスミドDNAの拡散速度の両方を測定した。その結果、最適条件下においてDNA拡散はほとんど生じなかった。しかし、高い相互夾雑条件下において、細胞接着が完了するまでの時間に、相当な量のプラスミドDNAが拡散し、その結果、固相表面からプラスミドDNAが涸渇した。

この確立された技術は、経済的な高スループットの遺伝子機能スクリーニングの状況において特に重要である。実際に、必要とされる少量のトランスフェクション試薬およびDNA、ならびに全プロセス(プラスミドの単離から検出まで)を自動化する可能性は、上記の方法の有用性を増大する。

結論として、本発明者らは、複合体-塩を用いた系で、hMSCトランスフェクションアレイを好首尾に実現した。このことは、多能性幹細胞の分化を制御する遺伝子機構の解明など、固相系トランスフェクションを利用した種々の研究における高スループット研究を可能にすることになる。固相系トランスフェクションの詳細な機構ならびに高スループットのリアルタイム遺伝子発現モ

ニタリングに対するこの技術の使用に関する方法論は種々の目的に応用可能であることが明らかになった。

(実施例 4 : 数理解析)

次に、実施例 2 の手法を用いて得られたデータをもとにプロファイルを生
5 成した。

(分化誘導)

各レポーターを固相支持体に固定し、未分化の間葉系幹細胞の維持培地 (M
SCGM、PT-3001、PT-3238、PT-4105、Cambrex、BioWhittaker, USA) において2日間培養後、分化誘導培
10 地 (hMSC Differentiation、PT-3002、PT-4120、Cambrex、BioWhittaker, USA) に培地を換え、各レ
ポーターの応答プロファイルを測定した。

(数理解析法)

使用した数理解析法を図 18 (図 18A-B (18-1~18-2)) に示す。

15 (使用した転写因子)

図 19 および図 24 に示すように、17 種類の転写因子 (ISRE、RAR
E、STAT3、GAS、NFAT、MIC、AP1、SRE、GRE、CR
E、NF κ B、ERE、TRE、E2F、Rb、p53) を、GFP に作動可
能に連結したプラスミド (Clontech から市販される) を用いて、間葉
20 系幹細胞の骨芽細胞分化を観察した。このとき得られたプロファイルを図 19
に示す。また、転写因子レポーターの構築は、図 23 に示されるように行った。

転写因子のレポーターのアッセイを行った。これは Clontech により
公開されているコントロール条件 (細胞、添加因子、培養条件など) にしたが
って行った。

25 その結果を図 25 に示す。このように DNA のみと比較した場合、ほとんどの
転写因子において誘導因子を添加したときに誘導がかかることが実証された。

次に、骨分化誘導の際の転写因子活性の時系列的測定を行った。これは上述の条件に従って、分化誘導させたときにプロファイルと比較したものである。プロファイルは、各レポーター遺伝子を固相系トランスフェクション法を用いて導入し、2日間未分化維持培地にて培養を行い、骨芽細胞分化誘導培地と交換した。この時点を経た骨芽細胞分化開始時間とした。添加因子などに関しては、骨芽細胞分化誘導培地に推奨の濃度にて行った。その他の培養に関しては、Cambrex社の指示書通りに行った。

結果を図26に示す。培地交換後10時間～30時間では、図26に左のようなプロファイルパターンを示していたのに対し、培地交換後5～6日では、右のようなプロファイルパターンを示し、顕著に変動していることが明らかになった。これを、図27に示される式を用いて、位相を算出し、その結果を図27の右の表にまとめた。このように、分化に特に深い関係がある、ISRE、RARE、STAT3、GRE、CRE、TRE、E2F、およびp53において、位相の反転が見られた。従って、位相を判定することは、プロセスの変化が起こる、つまり、転写制御が起こっていると判定することができることが明らかになった。

(プロモーターの任意性)

次に、分化誘導初期において任意に抽出される組み合わせを変化させるときの同定可能性を実証した。解析は図20に示されるように行った。

この結果を図20に示す。この解析により、分化のごく初期に関しては、分化誘導を把握できない（他のノイズもあると考えられる）が、約15時間後以降では、確認することが可能であることが判明した。変化を同定することができるのが100%となったのは、本実施例では8以上であったが、抽出数が3のときでもすでに90%を超える同定率を示しており、2のときでも88%、1のときでも82%を示していることから、1つでも、2つでも、あるいは少なくとも3つでも、細胞の状態を判定または同定するのに充分であることが明

らかになった。

(未分化維持)

次に、未分化維持に関して、任意に抽出される組み合わせを変化させて解析した。解析は図 20 に記載されるものに準じて行った。

- 5 この結果を図 21 に示す。分化誘導時の結果と比べると大きく異なり、この比較によって、本実施例での処理により、幹細胞が分化誘導に向かっているのか未分化を未分化を維持しているのかが判断することができる。このような判断は、少なくとも 1 つの生物学的因子を用いることによって行うことができた。このように少ない数でも十分に細胞の状態を判定することができることは、従
- 10 来技術では達成できなかったことであり、本発明は、優れた効果を達成したと
- いうことができる。

- このようにプロセスを解析することによって、図 22 に示すように、細胞機能の形成は、種々の因子のカクテルパーティープロセスとして記述することが可能であることがわかる。このようなプロセス記述により、本発明は、薬剤応
- 15 答プロセスおよび分化誘導プロセスの解析を行うことを可能にした。

(実施例 5：抗がん剤)

- 本実施例では、シスプラチンを抗がん剤の例として、培地に混ぜ、細胞に曝露した。用いた濃度としては、1 μ M、5 μ M、10 μ Mなどを適宜採用して
- 20 細胞の反応を見た。シスプラチンに耐性の細胞および感受性の細胞に対してシスプラチンを適用し、上述の実施例と同様にしてプロファイルを観察した。その結果、シスプラチンの濃度および耐性／感受性の違いにより、顕著にプロファイルが変動することが明らかになった。

(実施例 6：RNAi)

- 25 実施例 1 に記載されるように細胞を固定し、生物学的因子として RNAi を用いて遺伝子ノックダウン効果に関するプロファイルを取得することができる

ことを実証した。RNA i として以下のものを用いて、以下の実験を行った。リボザイム、siRNAなどの遺伝子発現抑制法を用いて遺伝子発現抑制を行った細胞における応答反応をプロフィールとして得ることが可能である。

R N A i :

- 5 <http://www.nippongene.jp/pages/products/sirna/review/> において入手可能な配列（例えば、Control siRNA duplex）を使用した。

（RNA i のトランスフェクション）

- siRNAがまず、ノックダウンし得るかどうかを確認した。EGFPに対する5'-AAGCAGCAGGACUUCUUAAG-3' siRNA（配列番号12）を合成し、
10 これを上述の実施例に記載されるようにアレイ基板を調製した。ここでは、プロモーター配列を含む核酸分子の代わりにsiRNAを用いてアレイ基板を調製した。このアレイ基板を用いてトランスフェクトすると、標的遺伝子の発現が効果的に抑制されるかどうかを確認した。そのプロトコルは、図28に示される。

- 15 （結果）

siRNAによる標的遺伝子抑制の効果を示す結果を図29Aに示す。実際に標的遺伝子の発現が効果的に抑制された。このゲルでの結果は、任意のデータ形式でプロファイルとして格納することができる。

- 次に、siRNAでの結果をプロファイルデータとして保存する。（5 μ
20 m/pixel 以下の解像度有するTIFFフォーマットの画像データ）。このようにsiRNAでの結果は、プロファイルデータとして保存できる。そのような形式は、この実施例で示した形式に限定されず、当業者は任意の形式を用いることができる。

- 25 （実施例9：コラーゲンIVコートチップ上におけるPC12細胞のトランスフェクションマイクロアレイのsiRNAを用いた応用例）

次に、siRNAを用いた遺伝子発現抑制実験を本実施例において行った。本実施例では、EGFPに対するsiRNAが特異的にEGFPの発現を抑制できるかどうかを指標に本発明が機能するかどうかを評価した。

実施例7などに記載されるような条件を用いて、コラーゲンIVをコーティングしたアレイ上でPC12のトランスフェクションを行った。実施例7において使用される遺伝子に代えて、以下の条件を使用した。

0. 75 ngの発現ベクター (pEGFP-N1)、HcRed (BD Clontechより購入) をそれぞれアレイ上の1スポットにスポッティングした。その後、16.5 ngのsiRNA (Dharmaconより購入。標的配列: 5' -GGC TAC GTC CAG GAG CGC ACC -3' (配列番号47) = a) またはスクランブルsiRNA (Dharmaconより購入。標的配列: 5' -gCg CgC TTT gTA g gA TTC g -3' (配列番号48) = b) をこのスポットに適用した。

結果を図29Bに示す。図29B (A) に示されるように、EGFPベクターおよび抗EGFP siRNAを共トランスフェクションしたPC12細胞の場合、HcRedのみが発色し、pEGFP-N1に由来する緑色信号が抑制されていたことが判明した。他方、図29B (B) に示されるように、スクランブルsiRNAの場合は、緑色の蛍光が観察され、図29B (A) における効果は、RNAiの効果であることが確認された。図29B (A) および図29B (B) における蛍光の強度を相対的に示した図を図29B (C) に示す。y軸は相対輝度により示す。EGFPによる効果は、ほぼ完全に抑えられていることが分かる。

図29Cには、これらをまとめた結果およびグラフを示す。左のパネルは、RNAiとpDNAとの比率を変動させた場合の、EGFPのRNAiとスクランブル (Mock) RNAiとを比較した写真である。示されるように、EGFPのRNAiでは阻害効果が示されているのに対してスクランブルでは、

変化がなかった。こ r を、D s R e d 2 とともに示したものを右パネルに示す。
実験条件は、上述のものに準じた。その結果、赤 (D s R e d 由来のシグナル)
および緑 (E G F P 由来のシグナル) は、R N A i の効果に比例して示された。

図 2 9 D には、R N A i レポーターを用いたチップの模式図を示す。インプ
5 ットシグナルとして R N A i を使用した場合、そのアウトプットとして E G F
などのシグナル発信が可能な遺伝子産物と目的となる遺伝子 (プロモーターを
含む) をコードする核酸を共に導入した場合、アウトプットとしてそのシグナ
ル発信を観察することによって、細胞情報を取り出すことが可能である。

図 2 9 E には、種々のレポーター (pAP1-EGFP, pAP1(PMA)-EGFP,
10 pCRE-EGFP, pE2F-EGFP, pERE-EGFP, pGAS-EGFP, pGRE-EGFP,
pHSE-EGFP, pISRE-EGFP, pMyc-EGFP, pNFAT-EGFP, pNFkB-EGFP,
pRARE-EGFP, pRb-EGFP, pSTST3-EGFP, pSRE-EGFP, pTRE-EGFP,
pp53-EGFP, pCREB-sensor, pIkb-sensor, pp53-sensor,
pCasapase3-sensor; シスエレメント配列は、クロンテックより購入。蛍光
15 蛋白質遺伝子を組み換えて作成したプラスミドベクター) を用いた実験例を示
す。このように、どのようなレポーターを用いても、本発明のシステムが作動
することが分かる。

(実施例 7: テトラサイクリン依存性プロモーターを用いた遺伝子発現調節)

実施例 1 ~ 3 に記載の実施例と同様に、テトラサイクリン依存性プロモータ
20 ーを用いて遺伝子発現調節がどのようになされるかをプロファイルとして生成
することができることを実証した。使用した配列は以下のとおりである。

テトラサイクリン依存性プロモーター (およびその遺伝子ベクター構築物)
としては、B D B i o s c i e n c e s の p T e t o f f および p T e t
o n ベ ク タ ー 系 を 用 い た
25 (http://www.clontech.com/techinfo/vectors/cattet.shtml を参
照) 。 ベ ク タ ー は 、 pTRE-d2EGFP を 利 用 し た

(<http://www.clontech.com/techinfo/vectors/vectorsT-Z/pTRE-d2EGFP.shtml> に記載されている)。

(プロトコル)

アレイ基板上に、テトラサイクリン依存性プロモーターと、非依存性プロモーター（配列をご教示ください）とをプリントし、同一基板上においてテトラサイクリンによる遺伝子発現調節がされるかどうかをリアルタイムで計測した。その結果を、図30に示す。図30に示されるように、依存性プロモーターのみ遺伝子発現の変化が測定された。図31には、非依存性と依存性における発現の実際の様子を写真として示す。このように、肉眼でもはっきりわかる程度に比較可能に変化が測定可能となる。

(プロファイルデータの測定)

リアルタイムに取得した画像をもとにして、細胞あたり、面積あたりの輝度変化をグラフ化し、ノイズ除去などの一次変換の後、多変量解析、信号処理法などを適用し、プロファイルデータを提示することができた。これを現象ごと、細胞ごとに比較することで、細胞特有の応答や同一性を取得することができた。

(実施例8：遺伝子発現)

次に、構造遺伝子をコードする核酸分子を用いて細胞のプロファイルを作成した。ここでは、構造遺伝子として、嗅覚レセプターI7（配列番号13、14）を使用した。プロトコルは、実施例1～3に準じた。

その結果、プロモーターと同様に、遺伝子産物の量などを測定することで、細胞のプロファイルを作成することができることが実証された。

(実施例9：アポトーシスシグナル)

次に、細胞内にあるカスパーゼ3の活性化に着目してモニターしても、細胞のプロファイルを作成することができることを調べた。トランスフェクトおよびアレイの調製は上述の実施例と同様に行った。

ここでは、pCaspase3-Sensor Vector (BD

Biosciences Clontech, 1020 East Meadow Circle, Palo Alto, CA 94303; カタログ番号 8185-1) を用いて、アポトーシスシグナルであるカスパーゼ 3 をモニターした。

5 その結果、プロモーターと同様に、アポトーシスシグナルなどを測定することで、細胞のプロファイルを作成することができることが実証された。

(実施例 10: ストレスシグナル)

10 次に、細胞内にある JNK、ERK、p38 などのアポトーシスシグナルを転写因子レポーターを使用してストレスシグナルに関し細胞のプロファイルを作成することができることを調べた。トランスフェクトおよびアレイの調製は上述の実施例と同様に行った。

ここでは、BD Bioscience Clontech から入手した pAP1-EGFP、pCRE-EGFP、pSRE-EGFP を用いて、ストレスシグナルである JNK、ERK、p38 をモニターした。

15 その結果上述の実施例と同様に、ストレスシグナルなどを測定することで、細胞のプロファイルを作成することができることが実証された。

(実施例 11: 分子局在化)

次に、蛍光タンパク質を目的遺伝子に融合させ、その発現プロファイルおよび細胞内における局在化を可視化することができることを実証した。

20 ここでは、蛍光タンパク質として、GFP, RFP, CFP, BFP を使用し、目的遺伝子として、KIAA クローン、cDNA ライブラリーなどを使用し、これらを用いて遺伝子構築物を作製した。具体的に使用したものは以下のとおりである。

KIAA cDNA クローン (KIAA=かずさDNA研究所、かずさ、千葉から入手可能)

インビトロジェンの cDNA 市販ライブラリー

25 トランスフェクトおよびアレイの調製は上述の実施例と同様に行った。

ここでは、KIAA クローンの内の KIAA1474 を用いて、発現プロファイルお

よび局在化をモニターした。

その結果上述の実施例と同様に、意図的に構築した遺伝子構築物を用いて、意図したパラメータについて、細胞のプロファイルを作成することができることが実証された。

5 (実施例 1 2 : 細胞形態変化)

次に、ある遺伝子を発現させて、あるいは、ノックダウンし、あるいは、添加物質（ここでは、化学物質としてグリセロフォスフェートを使用し、サイトカインとしてデキサメタゾンを使用する）細胞形態の変化をプロファイルとして取得することができることを実証した。細胞形態としては、細胞の多核化、
10 伸展状態、伸展突起の伸長などを、三次元データとして取得し、解析した。

ここでは、導入した核酸分子の具体的な配列は以下のとおりである。

KIAA クローン（前出）

転写因子に対する RNAi（CBFA-1，AP1）。

トランスフェクトおよびアレイの調製は上述の実施例と同様に行った。

15 ここでは、上述の実施例で用いた間葉系幹細胞を用いて、骨芽細胞分化誘導した際の細胞形態をモニターした。

その結果上述の実施例と同様に、意図的に構築した遺伝子構築物を用いて、意図したパラメータについて、細胞のプロファイルを作成することができることが実証された。

20 (実施例 1 3 : 分子間相互作用)

次に、ツーハイブリッドシステム、FRET、BRETなどの手法を用いて細胞のプロファイルを取得することができることを実証した。

ここでは、導入した核酸分子の具体的な配列は以下のとおりである。

嗅覚レセプター（配列番号 1 3 ～ 3 8 に示す配列をもつもの）と G タンパク
25 質（配列番号 3 9 ～ 4 4 に示す配列をもつもの）

トランスフェクトおよびアレイの調製は上述の実施例と同様に行った。

ここでは、嗅覚レセプターと G タンパク質の解離を臭い物質の誘導によってモニターし、これを蛍光波長の変化として用いて、細胞をモニターした。

ここで使用したツークハイブリッドシステム、FRETおよびBRETは、具体的には以下のようにして行った。

- 5 ツークハイブリッドシステム (Clontech から入手 ; <http://www.clontech.co.jp/product/catalog/007003006.shtml>)。FRETおよびBRETは、ベルトールドジャパンから入手可能な機器を用いて測定した。

- 10 その結果上述の実施例と同様に、意図的に構築した遺伝子構築物を用いて、ツークハイブリッドシステム、FRET、BRETなどによっても、細胞のプロファイルを作成することができることが実証された。

(実施例 14 : レセプターーリガンド)

- 次に、レセプターとリガンドとの相互作用を指標に細胞のプロファイルを取得することができることを実証した。細胞膜、核膜などに存在するレセプター
15 タンパク質とリガンドとの相互作用情報を取得することは、細胞内のネットワーク形成に有用である。

この実施例において調製したものは以下のとおりである。

(細胞接着因子)

- 細胞接着分子の候補として、種々の細胞外マトリクスタンパク質およびその
20 改変体もしくはそのフラグメントを準備した。この実施例において調製したものは以下のとおりである。細胞接着因子などは、市販のものを用いた。

- 1) プロネクチンF (三洋化成、京都、日本) ;
- 2) プロネクチンL (三洋化成) ;
- 3) プロネクチンPlus (三洋化成) ;
- 25 4) フィブロネクチン (配列番号 2)
- 5) ゼラチン。

DNAとしてトランスフェクションのためのプラスミドを調製した。プラスミドとして、pEGFP-N1 および pDsRed2-N1(ともに BD Biosciences, Clontech, CA, USA)を用いた。EGFの配列は、配列番号45-46に示される。これらのプラスミドでは、遺伝子発現はサイトメガロウイルス(CMV)の制御下にある。

- 5 プラスミドDNAを、E. coli(XL1 blue, Stratgene, TX, USA) 中で増幅し増幅したプラスミドDNAを複合体パートナーの一方として用いた。DNAは、DNaseもRNaseも含まない蒸留水中に溶解した。

- 使用したトランスフェクション試薬は以下の通りである：Effectene Transfection Reagent(cat. no. 301425, Qiagen, CA), TransFast™ Transfection Reagent(E2431, Promega, WI), Tfx™-20 Reagent(E2391, Promega, WI), SuperFect Transfection Reagent(301305, Qiagen, CA), PolyFect Transfection Reagent(301105, Qiagen, CA), LipofectAMINE 2000 Reagent(11668-019, Invitrogen corporation, CA), JetPEI(×4) conc. (101-30, Polyplus-transfection, France)およびExGen 500(R0511, Fermentas Inc., MD)。
- 10
- 15 トランスフェクション試薬は、上記DNAおよび細胞接着分子にあらかじめ加えるかあるいはDNAと複合体を先に生成してから使用した。

このようにして調製した溶液を以下のトランスフェクションアレイ作製に用いた。次に固相におけるトランスフェクション効果を観察した。そのプロトコルを以下に示す。

- 20 (プロトコル)

- DNAの最終濃度は、 $1\mu\text{g}/\mu\text{L}$ に調整した。細胞接着分子は、 ddH_2O 中で $10\mu\text{g}/\mu\text{L}$ のストックとして保存した。全ての希釈をPBS、 ddH_2O またはDMEM培地を用いて行った。希釈系列として、例えば、 $0.2\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、 $0.27\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、 $0.4\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、 $0.53\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、 $0.6\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、 $0.8\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、 $1.0\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、 $1.07\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、 $1.33\mu\text{g}/\mu\text{L}$ などを調製した。
- 25

トランスフェクション試薬は、それぞれの製造業者が提供する指示書に従っ

て、使用した。

プラスミドDNA：グリセロールストックから100mLのLamp中で一晩増殖させ、Qiaprep Miniprep または Qiagen Plasmid Purification Maxi を用いて製造業者が提供する標準プロトコールによって精製した。

- 5 本実施例では、以下の5種類の細胞を利用して、効果を確認した：ヒト間葉系幹細胞 (hMSCs、PT-2501、Cambrex BioScience Walkersville, Inc., MD)、ヒト胚性腎細胞 (HEK293、RCB1637、RIKEN Cell Bank, JPN)、NIH3T3-3 細胞 (RCB0150, RIKEN Cell Bank, JPN)、Hela細胞 (RCB0007, RIKEN Cell Bank, JPN) およびHepG2 (RCB1648, RIKEN Cell Bank, JPN)。これらは、L-glut および pen/strep を含む DMEM/10%IFS 中で培養した。

(希釈およびDNAのスポット)

- トランスフェクション試薬とDNAとを混合してDNA-トランスフェクション試薬複合体を形成させる。複合体形成にはある程度の時間が必要であることから、上記混合物を、アレイ作製機 (arrayer) を用いて固相支持体
15 (例えば、ポリ-リジンスライド) にスポットした。本実施例では、固相支持体として、ポリ-リジンスライドのほか、APSスライド、MASスライド、コーティングなしのスライドを用いた。これらは、松浪硝子 (岸和田、日本) などから入手可能である。

- 複合体形成およびスポット固定のために、真空乾燥機中で一晩スライドを乾燥させた。乾燥時間の範囲は、2時間から1週間とした。

細胞接着分子は、上記複合体形成時に使用してもよいが、本実施例では、スポットティングの直前に使用する形態も試験した。

(混合液の調製および固相支持体への適用)

- エッペンドルフチューブに、300 μ LのDNA濃縮緩衝液 (EC緩衝液)
25 +16 μ Lのエンハンサーを混合した。これをボルテックスによって混合し、5分間インキュベートした。50 μ Lのトランスフェクション試薬 (Effector)

- c t e n e など)を加え、そしてピペッティングによって混合した。トランスフェクション試薬を適用するために、スライドのスポットのまわりにワックス環状バリアーを引いた。スポットのワックスで囲まれた領域に $366 \mu\text{L}$ の混合物を加え、室温で10から20分間インキュベートした。これにより、支持体への手動による固定が達成された。

(細胞の分配)

- 次に、細胞を添加するプロトコルを示す。トランスフェクトのために細胞を分配した。この分配は、通常、フード内で試薬を減圧吸引して行った。スライドを皿に置き、そしてトランスフェクションのために細胞を含む溶液を加えた。
- 10 細胞の分配は、以下のとおりである。

- 細胞の濃度が 25 mL 中 10^7 細胞になるように、増殖中の細胞を分配した。四角の $100 \times 100 \times 15 \text{ mm}$ のペトリ皿または半径 $100 \text{ mm} \times 15 \text{ mm}$ の円形ディッシュ中で、スライド上に細胞をプレーティングした。約40時間、トランスフェクションを進行させた。これは、約2細胞周期にあたる。免疫蛍光のためにスライドを処理した。
- 15

(遺伝子導入の評価)

遺伝子導入の評価は、例えば、免疫蛍光、蛍光顕微鏡検査、レーザー走査、またはエマルジョンを用いた検出によって達成した。

- 可視化されるべき発現されたタンパク質が蛍光タンパク質であるなら、それらを蛍光顕微鏡検査で見てそして写真を撮ることができる。大きな発現アレイに関しては、スライドをデータ保存のためにレーザースキャナーで走査し得る。あるいは、カルシウムの場合のように、特異的な蛍光で検出可能な場合は、その蛍光を検出することによってシグナルを検出することができる。発現されたタンパク質を蛍光抗体が検出し得るなら、免疫蛍光のプロトコルを引き続き行うことができる。
- 20
- 25

(レーザー走査および蛍光強度定量)

トランスフェクション効率を定量するために、本発明者らは、DNAマイクロアレイスキャナ (GeneTAC UC4×4、Genomic Solutions Inc., MI) を使用した。総蛍光強度 (任意の単位) を測定した後、表面積あたりの蛍光強度を計算した。

5 (共焦点顕微鏡による切片観察)

使用した細胞を、組織培養ディッシュに最終濃度 1×10^5 細胞/ウェルで播種し、適切な培地を用いて (ヒト間葉系細胞の場合ヒト間葉系細胞基本培地 (MSCGM, BulletKit PT-3001, Cambrex BioScience Walkersville, Inc., MD, USA) を用いた) 培養した。細胞層を 4% パラホルムアルデヒド溶液で固定した後、
10 染色試薬である SYTO および Texas Red-X ファロイジン (Molecular Probes Inc., OR, USA) を細胞層に添加して、核および F アクチンを観察する。遺伝子産物によって発色するサンプルまたは染色されたサンプルを共焦点レーザー顕微鏡 (LSM510, Carl Zeiss Co., Ltd、ピンホールサイズ = $Ch1 = 123 \mu m$ 、 $Ch2 = 108 \mu m$; 画像間隔 = 0.4) を用いて、切片像を得る。
15

次に、嗅覚レセプターをレセプターーリガンドの相互作用の観察のための資料として、本発明のセンサに応用した実施例を示す。予備的実験を行ったところ、嗅覚レセプターでもトランスフェクションアレイを用いることが可能であることが判明した。

20 嗅覚レセプター発現ベクター群をレセプター種毎にスポットし、アレイ状にしたカバーガラスを信号測定用チャンバーにネジなどで固定し、その上に性質がほぼ均一な細胞を培養しておいた。信号測定用チャンバーは、公知の構造 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96(1999): 4040-4045 など) にサンプルガスを導入した。その他の工夫をしたものもまた企図される。応答測定中は培養液を一定
25 の速度で流しておいた。培養液が培養液供給チューブの開口から測定用チャンバーに供給され、測定部天井用カバーガラス上への培養液の進入を防止する壁

に達するまでの区間の上部のなるべく液面に近い位置に、サンプルガスがこの区間を流れる培養液に吹き付けられるようにサンプルガス供給チューブを固定しておいた。このサンプルガス供給チューブはテフロン、ピークなど親油性の匂い物質、埃の吸着しにくい材料で作られていることが好ましかった。また、

5 サンプルガスを導入するとき以外の時間は、チューブ内の残留サンプルガスを除去し、内部をなるべく清浄に保つために、途中に 3 方弁あるいは無臭空気供給チューブとの接続部での無臭空気供給チューブ側に逆止弁などを設けて無臭空気でチューブのなるべく広範な長さを洗浄できるようにしておく効果が高かったが、必要というわけではなかった。サンプルガスを 0.5~4 秒間の適当な

10 時間だけ外部から導入するとき以外は、外部のガス採取開口に近いサンプルガス供給チューブの途中から無臭空気を導入し、チューブ内を洗浄する一方でサンプルガスと同様に培養液に吹き付け、測定チャンバー内の残留ガスの排除を促進するようにしても実施され得た。天井用カバーガラス支持用ベースはテフロンなど撥水製の不透明プラスチックで作成する。培養液の流れる流路幅は、

15 アレイの幅の 2 倍程度とし、その中心にアレイが配置されるようにしておく。培養液供給チューブおよびオーバーフロー培養液吸引チューブは、測定チャンバー側の開口部から数ミリの長さ分はステンレスなど親水性が高く変形しにくい材料を用いる。両者のチューブの開口部からアレイ側に向けて、培養液が流れる天井用カバーガラス支持用ベース上の部分は親水性を十分に持たせるために、コーティングをするかレンズペーパー片などを固定した。吸引のための陰

20 圧は、培養液の吸い込みにより生じる音による振動が測定に影響を与えない程度に調整しておいた。

一般的にベクターにより導入された遺伝子が発現する 2 日後には応答の測定が可能であった。天井用カバーガラスは測定時にのみ必要になるため、遺伝子を

25 を発現させるまでの培養中は設置不要であり、遺伝子が発現し蛍光変化計測系に測定用チャンバーを設置する際に、培養液進入防止壁と一体化させた天井用

カバーガラス、天井用カバーガラス支持用ベースを測定用チャンパーに付加しても実施し得た。また、同遺伝子を発現させるまでの培養中は、培養液供給チューブとオーバーフロー培養液吸引チューブを用いずに培養液を交換しても実施し得た。培養液は、応答計測を行わず培養のみしている期間は、数時間～1日に1回程度の頻度で培養液の10ml程度の分量が供給され交換されるようにした。

匂い応答の大きさは、細胞にカルシウムイオン感受性蛍光色素 fura-2 などを取り込ませておき、高感度ビデオカメラなど2次元撮像素子を用いることで光学的に計測することが可能であった。測定間隔は1/3秒～1秒程度で応答の立ち上がりと回復の時定数を評価できる時間分解能を持たせることが望ましいが、平均的な応答時間曲線あるいはその理論式が得られている場合は、刺激後5秒、10秒、15秒、20秒、25秒の5秒間隔の5点での計測結果から実際の変化を推定し、得られる応答開始時期、応答立ち上がり・回復の時定数の推定値を指標として信号が匂いにより引き起こされたものか細胞の自発的活動あるいは他の異常により生じているものかなどを評価することもできた。このような評価は、すべて、細胞のプロファイルとして取得することが可能であった。

本実施例では、具体的なパラメータとして、嗅覚受容細胞 (olfactory receptor neuron) において、発現している嗅覚レセプターの応答をカルシウム感受性蛍光色素の蛍光強度変化の測定により調べた。蛍光強度の減少が嗅覚レセプターの応答に対応する。刺激源として、図中に示した略号の匂い分子をその上に示した濃度で培養液に加えて、バーで示す時間だけ (4秒間あるいは2秒間) 細胞に投与した。この例からも分かるように、同時に調製された細胞で同時に測定された応答では、応答の時間特性、細胞毎の異なる刺激に対する応答閾値濃度および応答振幅の相対値の共通性が高いが、異なる時期に調整された細胞では、多少の相違が見られた。これらの結果は、調整条件を同じにし、サンプルガスが均一に投与されるサイズにアレイ化したセンサによって匂い応答を計測することによって、最も測定の信頼性を高めることが可能になることを示している。

このように、本発明において、嗅覚レセプターーリガンド（嗅覚物質）を用いても、細胞のプロファイルを取得することができることがわかった。

（実施例 15：ニューロン分化への応用）

次に、実施例 14 と同様の実験をニューロンで行い、チロシンキナーゼの R N A i の影響をトランスフェクションマイクロアレイを用いて分析した。その
5 模式図を図 3 1 B に示す。

図 3 1 B に示すように、レポーターが示すシグナルを写真撮影し情報を収集することによって、ネットワーク解析などを行うことができる。

図 3 1 C には、種々のチロシンキナーゼによるレチノイン酸（R A）および
10 神経成長因子（N G F）の応答を示す。s i R N A での阻害%を示した。

図 3 1 D は、解析の結果得られたシグナル伝達経路の模式図を示す。

図 3 1 E は、上記の解析により得られた結果を示す。ドパミン作動性ニュー
ロンであるか、コリン作動性ニューロンであるか、その両方であるか、その両
方でないかで分類してある。両方に関与するものが神経突起形成に関与する可
15 能性が高いと分析できる。

（実施例 16：データ生成）

実施例 5 ～ 15 において生成したデータは、実施例 4 に記載したのと同様に、
適宜改変を加えた数理解析を用いて解析することができる。そのようなデータ
は、種々の形態をもって提示することができることが実証された。

20 （実施例 17：デジタル細胞の生成）

実施例 5 ～ 15 において生成したデータおよびこれらの実施例に記載される
プロトコルを用いて生成した追加データを用いて、デジタル細胞を生成した。
デジタル細胞を生成するために、これらの実施例で生成したデータのためのパ
ラメータを抽出し、まず環境パラメータとして、培地、p H、温度、C O₂濃度
25 などでデータ整理する。データベース作成は、例えば、M i c r o s o f t から
発売される E x c e l のような表作成ソフトウェアまたは A c c e s s など

のデータベースソフトウェアを用いて作成することができる。次に、細胞パラメータとして、実施例 5～15 において使用した細胞種を含むデータベースを作成することができる。これに、種々の刺激パラメータ（種々の化学刺激（例えば、HGF、FGF、PDGF、VEGF、CSF などの種々の増殖因子またはサイトカイン）を含む）を入力し、刺激応答結果を、細胞動態データ、レポーターの計測データ（例えば、蛍光強度など）として入力することができる。これにより、デジタル細胞を構成するデータベースが作成される。その例は、図 33A、図 33B に示される。

（実施例 18：デジタル細胞の利用ーインシリコ生実験）

- 10 実施例 17 において作成したデジタル細胞を用いて、コンピュータ上で実験を行う。本実施例では、間葉系幹細胞を用いてどのような因子が分化因子であるかどうかを検討する。図 33A を例にとれば、細胞は細胞 A（ここでは、例えば、間葉系幹細胞など）を選択する。これに対して、培地として、DMEM を選択し、pH は 7.4 を選択し、温度として 37℃ を選択し、CO₂ 濃度として 5% を選択する。これに対して、種々の化学刺激（例えば、HGF、FGF、PDGF、VEGF、CSF などの種々の増殖因子またはサイトカイン）を選択する。種々の化学刺激については、濃度も適宜（例えば、1 nM～1 mM）を選択する。種々の化学刺激には、それらの 2 つおよび 3 つの組合せも選択しておく。これらの組合せおよび濃度に応じて、間葉系幹細胞がどのように応答するかについてデータ出力する。出力データとしては、細胞動態データを含める。細胞動態データから、間葉系幹細胞が分化（例えば、骨髄細胞、脂肪細胞など）するかどうかを確認する。形状で足りない場合は、さらに、レポーターとして転写因子と EGF との組合せを用いてさらに計測データを出力させる。これにより、間葉系幹細胞がどの分化細胞に分化したかを確認する。これにより、分化細胞へと分化させる化学刺激を特定することができる。
- 25

（実施例 19：デジタル細胞の利用ーインシリコ生実験による教育）

実施例 18 に記載されるようなインシリコ生実験を、今度は、学校教育において実施する。今度は、上述のような実験テーマを学生に与える。学生は、与えられたデジタル細胞のデータベースから種々のパラメータを選択する。選択したデータをもとに、学生は、自分なりの研究を組み立てる。組み立てられた研究成果は、学生が課題として提出する。これにより、学生を生の実験系を使用せずに教育することができる。

(実施例 20：デジタル細胞のサービスとしての提供)

デジタル細胞のデータベースは、外部サービスとして、提供することができる。実施例 18 において生成したデータベースは、例えば、図 35 に示されるものを利用することができる。ここでは、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供するコンピュータシステム 3501 の構成が示される。コンピュータシステム 3501 は、ユーザが所望するサービスをリクエストするサービスリクエスタ 3510 と、そのリクエストに応答して所定のサービスを提供するサービスプロバイダ 3520 とを含む。ユーザーとして、例えば、研究機関または学校教育機関が、要求するサービスをリクエストする。商用サービスを展開するサービスリクエスタは、要求に応じて、適切にデータを研究機関または学校教育機関に提供する。学校教育目的などでは、例えば、ある特定の細胞、パラメータなどの特定のデータベースのみをサービス対象としてもよい。

このように、本発明のデジタル細胞を用いてサービスを提供することが実証される。

以上のように、本発明の好ましい実施形態を用いて本発明を例示してきたが、本発明は、特許請求の範囲によってのみその範囲が解釈されるべきであることが理解される。本明細書において引用した特許、特許出願および文献は、その内容自体が具体的に本明細書に記載されているのと同様にその内容が本明細書に対する参考として援用されるべきであることが理解される。

産業上の利用可能性

- 本発明により、驚くべきほど少ない因子を観察することによって、細胞の状態を判定することが可能になった。このような判定により、診断、予防、治療
- 5 に応用することが可能となり、その応用範囲は医療のみならず、食品、化粧品、農業、環境など種々の分野に及ぶ。コンピュータ上で生実験を再現できることから、バイオテクノロジーにおける教育および研究を行うことができるようになったという産業上の有用性も有する。

請求の範囲

1. 同一環境にある細胞の情報に関するプロファイルデータを生成する方法であって、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上に配置する工程；お

5 よび

b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロファイルのデータを生成する工程；

を包含する、方法。

2. 前記生物学的因子は、核酸分子または該核酸分子に由来する分子である、請求項 1 に記載の方法。

3. 前記細胞は、a) 正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体；および b) 塩、を含む、組成物によって、前記支持体に固定される、請求項 1 に記載の方法。

4. 前記細胞には、アクチン作用物質が提供される、請求項 1 に記載の方法。

5. 前記細胞は、a) 正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体；および b) 塩、を含む、組成物によって、前記支持体に固定され、かつ、アクチン作用物質が提供される、請求項 1 に記載の方法。

6. 前記生物学的因子は、核酸分子、タンパク質、糖鎖、脂質、低分子、それらの複合分子からなる群より選択される、請求項 1 に記載の方法。

7. 前記細胞は、モニター前に少なくとも約 3 日間培養される、請求項 1 に記載の方法。

8. 前記生物学的因子は、遺伝子をコードする核酸分子を含む、請求項 1 に記載の方法。

9. 前記プロファイルは、遺伝子発現のプロファイルを含む、請求項 1 に記載の方法。

10. 前記プロファイルは、アポトーシスシグナルのプロファイルを含む、請求項1に記載の方法。

11. 前記プロファイルは、ストレスシグナルのプロファイルである、請求項1に記載の方法。

5 12. 前記プロファイルは、分子の局在化に関するプロファイルである、請求項1に記載の方法。

13. 前記分子は、蛍光、燐光、放射性物質またはその組み合わせにて標識される、請求項12に記載の方法。

10 14. 前記プロファイルは、細胞形態の変化を含む、請求項1に記載の方法。

15. 前記プロファイルは、プロモーターのプロファイルを含む、請求項1に記載の方法。

16. 前記プロファイルは、特定薬剤依存性のプロモーターのプロファイルを含む、請求項1に記載の方法。

15 17. 前記プロファイルは、特定薬剤依存性のプロモーターのプロファイルを含み、前記特定薬剤を投与するさらに工程を含む、請求項1に記載の方法。

18. 外来因子が前記細胞に提供される工程をさらに包含する、請求項1に記載の方法。

19. 前記外来因子は、RNAiを含む、請求項18に記載の方法。

20 20. 前記外来因子は、生体に存在しない化学物質を含む、請求項18に記載の方法。

21. 前記プロファイルは、分子間相互作用のプロファイルを含む、請求項1に記載の方法。

25 22. 前記外来因子は、前記細胞のレセプターに対するリガンドを含む、請求項18に記載の方法。

23. 前記プロファイルは、レセプターリガンド相互作用のプロファイル

を含む、請求項 1 に記載の方法。

24. 前記プロファイルは細胞形態であり、前記方法は、遺伝子の過剰発現、過小発現もしくはノックダウン、外来因子の添加および環境の変化からなる群より選択される、刺激を該細胞に与える工程をさらに包含する、請求項 1

5 に記載の方法。

25. 前記プロファイルは、前記細胞内に存在する分子間の相互作用のプロファイルを含む、請求項 1 に記載の方法。

26. 前記方法は、ツーハイブリッド法、FRETおよびBRETからなる群より選択される技術を用いた観察を行う工程をさらに包含する、請求項 1

10 に記載の方法。

27. 前記プロファイルは、前記細胞内に存在する分子間の相互作用のプロファイルを含み、前記方法は、ツーハイブリッド法、FRETおよびBRETからなる群より選択される技術を用いた観察を行う工程をさらに包含する、請求項 1 に記載の方法。

15 28. 前記細胞は、前記支持体上にアレイ状に配置される、請求項 1 に記載の方法。

29. 前記細胞は、前記支持体上にアレイ状に配置され、前記複数の細胞は、各々が最大 1 mm の間隔をあけて配置される、請求項 1 に記載の方法。

20 30. 前記プロファイルはリアルタイムに得られる、請求項 1 に記載の方法。

31. 前記細胞を固相支持体に固定する工程をさらに包含する、請求項 1 に記載の方法。

32. 前記データは、前記プロファイルに関する情報を含む、請求項 1 に記載の方法。

25 33. 前記データは、前記モニターにおける条件に関する情報を含む、請求項 1 に記載の方法。

34. 前記データは、前記細胞の状態に関する情報を含む、請求項1に記載の方法。

35. 前記モニターされる生物学的因子は、少なくとも2種の生物学的因子を含む、請求項1に記載の方法。

5 36. 前記モニターされる生物学的因子は、少なくとも3種の生物学的因子を含む、請求項1に記載の方法。

37. 前記モニターされる生物学的因子は、少なくとも8種の生物学的因子を含む、請求項1に記載の方法。

10 38. 生物学的因子を任意に選択する工程をさらに包含する、請求項1に記載の方法。

39. 前記細胞は、幹細胞および体細胞からなる群より選択される、請求項1に記載の方法。

40. 前記支持体は、固相支持体を含む、請求項1に記載の方法。

41. 前記支持体は、基板を含む、請求項1に記載の方法。

15 42. 前記生物学的因子は核酸分子であり、前記細胞は、該核酸分子でトランスフェクトされる、請求項1に記載の方法。

43. 前記トランスフェクトは固相上または液相中で行われる、請求項42に記載の方法。

20 44. 前記トランスフェクトは固相上で行われる、請求項42に記載の方法。

45. 前記プロファイルの位相を比較する工程を包含する、請求項1に記載の方法。

46. 前記細胞のプロファイルとコントロールプロファイルとの差分をとる工程を包含する、請求項1に記載の方法。

25 47. 前記プロファイルは、信号処理法および多変量解析からなる群より選択される数学処理により処理される工程をさらに包含する、請求項1に記載

の方法。

48. 同一環境にある細胞の情報に関するプロファイルデータを提示方法であって、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上に配置する工程；

5 b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロファイルのデータを生成する工程；および

c) 該データを提示する工程、
を包含する、方法。

49. 前記提示はリアルタイムである、請求項48に記載の提示方法。

10 50. 前記提示は、視覚で感知されるように行われる、請求項48に記載の方法。

51. 前記提示は、聴覚で感知されるように行われる、請求項48に記載の方法。

52. 同一環境にある細胞の状態を判定する方法であって、

15 a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上に配置する工程；

b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロファイルのデータを生成する工程；および

c) 該データから該細胞の状態を判定する工程、
を包含する、方法。

20 53. 前記プロファイルと前記細胞の状態とを予め相関付ける工程をさらに包含する、請求項52に記載の方法。

54. 前記細胞は、状態が既知の細胞を含む、請求項52に記載の方法。

55. 前記生物学的因子は、少なくとも2種存在する、請求項52に記載の方法。

25 56. 前記生物学的因子を任意に選択する工程をさらに包含する、請求項52に記載の方法。

5 7. 前記データは、リアルタイムで生成される、請求項 5 2 に記載の方法。

5 8. 前記状態は、分化状態、未分化状態、外来因子に対する細胞応答、細胞周期および増殖状態からなる群より選択される、請求項 5 2 に記載の方法。

5 5 9. 前記細胞は、幹細胞および体細胞からなる群より選択される、請求項 5 2 に記載の方法。

6 0. 前記固相支持体は、基板を含む、請求項 5 2 に記載の方法。

6 1. 前記生物学的因子は核酸分子であり、前記細胞は該核酸分子でトランスフェクトされる、請求項 5 2 に記載の方法。

10 6 2. 前記トランスフェクトは固相上または液相中で行われる、請求項 6 1 に記載の方法。

6 3. 前記生物学的因子は、他の生物学的因子に結合する能力を有する、請求項 5 2 に記載の方法。

15 6 4. 前記判定工程 c) は、前記プロファイルの位相を比較することを包含する、請求項 5 2 に記載の方法。

6 5. 前記判定工程 c) は、前記プロファイルとコントロールプロファイルとの差分をとる工程を包含する、請求項 5 2 に記載の方法。

6 6. 前記判定工程 c) は、信号処理法および多変量解析からなる群より選択される数学処理を包含する、請求項 5 2 に記載の方法。

20 6 7. 外来因子と、該外来因子に対する細胞の応答とを相関付ける方法であって、

a) 細胞を、複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上で、外来因子に曝露する工程；

25 b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロファイルのデータを生成する工程；および

c) 該外来因子と、該プロファイルとを相関付ける工程；

を包含する、方法。

68. 前記細胞は、前記支持体に固定される、請求項67に記載の方法。

69. 少なくとも2つの前記外来因子を使用して、各外来因子に対するプロフィールを得る工程をさらに包含する、請求項67に記載の方法。

5 70. 少なくとも2つの前記プロフィールを類別することにより、該プロフィールに対応する外来因子を類別する工程をさらに包含する、請求項67に記載の方法。

71. 前記プロフィールは、リアルタイムで提示される、請求項70に記載の方法。

10 72. 前記細胞は、アレイ上で培養される、請求項67に記載の方法。

73. 前記工程(b)におけるプロフィールのモニターは、前記アレイから画像データを得ることを包含する、請求項67に記載の方法。

74. 前記(c)における前記外来因子と前記プロフィールとを相関付ける工程は、前記プロフィールの位相の異同を識別する工程である、請求項67
15 に記載の方法。

75. 前記外来因子は、温度変化、湿度変化、電磁波、電位差、可視光線、赤外線、紫外線、X線、化学物質、圧力、重力変化、ガス分圧および浸透圧からなる群から選択される、請求項67に記載の方法。

76. 前記化学物質は、生体分子、化学合成物または培地である、請求項
20 75に記載の方法。

77. 前記生体分子は、核酸分子、タンパク質、脂質、糖、プロテオリピッド、リポプロテイン、糖タンパク質およびプロテオグリカンからなる群から選択される、請求項76に記載の方法。

78. 前記生体分子は、ホルモン、サイトカイン、細胞接着因子および細胞外マトリクスからなる群より選択される少なくとも1つの生体分子を含む、
25 請求項76に記載の方法。

79. 前記化学物質は、レセプターのアゴニストまたはアンタゴニストである、請求項75に記載の方法。

80. 細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を同定するための方法であって、

- 5 a) 細胞に、同一環境を保つことができる支持体上で、複数の既知の外来因子を曝露する工程；
 - b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターし、既知の外来因子の各々に対する該細胞のプロファイルを得て該細胞のプロファイルのデータを生成する工程；
 - 10 c) 該既知の外来因子の各々と、該プロファイルの各々とを相関付ける工程；
 - d) 該細胞を未同定の外来因子に曝露する工程；
 - e) 外来因子に曝露された該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして、未同定の外来因子に関する該細胞のプロファイルを得る工程；
 - 15 f) 該工程（b）で得られたプロファイルの中から、該工程（e）で得られたプロファイルに対応するプロファイルを決定する工程；および
 - g) 該未同定の外来因子は、該工程（f）において決定されたプロファイルに対応する該既知の外来因子であることを決定する工程；
- を包含する、方法。
- 20 81. 細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を同定するための方法であって、
- a) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体に関し、既知の外来因子と、該既知の外来因子に対応する該細胞のプロファイルとの相関関係に関するデータを提供する工程；
 - 25 b) 該細胞を未同定の外来因子に曝露する工程；
 - c) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモ

ニターして、該細胞のプロファイルを得る工程；

d) 該工程 (a) において提供された、該プロファイルの中から、該工程 (c) において得られたプロファイルに対応するプロファイルを決定する工程；および

- 5 e) 該未同定の外来因子は、該決定されたプロファイルに対応する該既知の外来因子であることを決定する工程；
を包含する、方法。

8 2. 同一環境にある細胞の情報に関するプロファイルを得る方法であって、

- 10 a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体上に配置する工程；および

b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロファイルを得る工程、
を包含する、方法。

- 15 8 3. 請求項 1 に記載の方法によつ生成されたデータが格納される記録媒体。

- 8 4. 前記記録媒体は、前記モニターにおける条件に関する情報、前記プロファイルに関する情報、前記細胞の状態に関する情報および前記生物学的因子に関する情報からなる群より選択される、少なくとも 1 つの情報に関するデータをさらに含む、請求項 8 3 に記載の記録媒体。

8 5. 前記データは、互いにリンクされた形態で格納される、請求項 8 4 に記載の記録媒体。

8 6. 前記データは、前記細胞ごとにリンクされて格納される、請求項 8 4 に記載の記録媒体。

- 25 8 7. 請求項 1 に記載された方法によって生成されたデータ。

8 8. 請求項 1 に記載された方法によって生成されたデータを含む伝送媒

体。

89. 同一環境にある複数の細胞の情報に関するプロフィールデータを生成するシステムであって、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；

5 b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段；および

c) 該モニター手段から得られた信号から該細胞のプロファイルのデータを生成する手段；

を備える、システム。

10 90. 複数の細胞をさらに含み、該複数の細胞は前記支持体に固定される、請求項89に記載のシステム。

91. 前記支持体には、塩およびアクチン作用物質からなる群より選択される少なくとも1つの物質が付着される、請求項90に記載のシステム。

92. 前記モニター手段は、光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、位相顕微鏡、レーザー光源を用いた読取装置、表面プラズモン共鳴（SPR）イメージング、電気信号、化学的または生化学的マーカーのいずれかあるいは複数種を用いる手段、放射光、共焦点顕微鏡、非共焦点顕微鏡、微分干渉顕微鏡、実体顕微鏡、ビデオモニターおよび赤外線カメラからなる群より選択される少なくともひとつの手段を含む、請求項89に記載のシステム。

20 93. 同一環境にある細胞の情報に関するプロフィールを提示するシステムであって、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；

b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段；

25 c) 該モニター手段から得られた信号から該細胞のプロファイルのデータを生成する手段；および

d) 該データを提示する手段、
を備える、システム。

94. 複数の細胞をさらに含み、該複数の細胞は前記支持体に固定される、
請求項93に記載のシステム。

5 95. 前記支持体には、塩およびアクチン作用物質からなる群より選択される少なくとも1つの物質が付着される、請求項93に記載のシステム。

96. 前記モニター手段は、光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、位相顕微鏡、レーザー光源を用いた読取装置、表面プラズモン共鳴 (SPR) イメージング、電気信号、化学的または生化学的マーカーのいずれかあるいは複数種を用いる手段、
10 放射光、共焦点顕微鏡、非共焦点顕微鏡、微分干涉顕微鏡、実体顕微鏡、ビデオモニターおよび赤外線カメラからなる群より選択される少なくともひとつの手段を含む、請求項93に記載のシステム。

97. 前記データを提示する手段は、ディスプレイである、請求項93に記載のシステム。

15 98. 前記データを提示する手段は、スピーカである、請求項93に記載のシステム。

99. 細胞の状態を判定するシステムであって、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；

b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段；
20

c) 該モニター手段から得られた信号からデータを生成する手段；および

d) 該データから該細胞の状態を外挿する手段、
を備える、システム。

100. 外来因子と、該外来因子に対する細胞の応答とを相関付けるシステムであって、
25

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；

b) 外来因子を曝露する手段；

c) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段；

5 d) 該モニター手段からの信号から、該細胞のプロファイルのデータを生成する工程；および

e) 該外来因子と、該プロファイルとを相関付ける手段；
を備える、システム。

10 101. 細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を同定するためのシステムであって、

a) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；

b) 既知の外来因子を曝露する手段；

c) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段；

15 d) 外来因子の各々に対する該細胞のプロファイルを得て該細胞のプロファイルのデータを生成する手段；

e) 該既知の外来因子の各々と、該プロファイルの各々とを相関付ける手段；

f) 該細胞を未同定の外来因子に曝露する手段；

20 g) 該手段(d)で得られた既知の外来因子のプロファイルと、未知の外来因子のプロファイルとを比較し、既知の外来因子のプロファイルの中から、未知の外来因子のプロファイルに対応するプロファイルを決める手段であって、
該決定された未同定の外来因子は、該決定されたプロファイルに対応する該既知の外来因子である、手段、
を備える、システム。

25 102. 細胞のプロファイルから、細胞に与えられた未同定の外来因子を同定するためのシステムであって、

a) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体に関し、既知

の外来因子と、該既知の外来因子に対応する該細胞のプロファイルとの相関関係に関するデータが格納された記録媒体；

b) 該細胞を未同定の外来因子に曝露する手段；

c) 複数の細胞を同一環境を保つことができる支持体；

5 d) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターする手段；

e) 該モニター手段から得られた信号から、該細胞のプロファイルを得る手段；

f) 該記録媒体 (a) において格納される該プロファイルの中から、未知の
10 外来因子に関して得られたプロファイルに対応するプロファイルを決する手段であって、該未同定の外来因子は、該決定されたプロファイルに対応する該既知の外来因子である、手段；

を備える、システム。

1 0 3. 複数の細胞を固定し得、かつ、該細胞の環境を同一に維持し得る
15 支持体。

1 0 4. 前記支持体上の細胞は、アレイ状に配置され得る、請求項 1 0 3 に記載の支持体。

1 0 5. 塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体、またはアクチン作用物質を含む、請求項 1 0 3 に記載の支持体。

20 1 0 6. 塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体、ならびにアクチン作用物質を含む、請求項 1 0 3 に記載の支持体。

1 0 7. 前記細胞は、最大 1 mm 以下の間隔で配置され得る、請求項 1 0 3 に記載の支持体。

1 0 8. 固定された細胞をさらに含む、請求項 1 0 3 に記載の支持体。

25 1 0 9. 固定された生物学的因子をさらに含む、請求項 1 0 4 に記載の支持体。

110. 前記生物学的因子は2種類以上固定される、請求項109に記載の支持体。

111. 細胞および生物学的因子が固定される、請求項103に記載の支持体。

5 112. 塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体と、アクチン作用物質とが、細胞および生物学的因子とともに固定される、請求項103に記載の支持体。

113. 塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体と、アクチン作用物質とが、細胞および生物学的因子とともにアレイ状に固定される、
10 請求項103に記載の支持体。

114. 塩と、遺伝子導入試薬と、アクチン作用物質と、核酸分子と、細胞とがアレイ状に固定される、請求項104に記載の支持体。

115. 前記塩は、塩化カルシウム、リン酸水素ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、ピルビン酸ナトリウム、HEPES、塩化カルシウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、硫化マグネシウム、硝酸鉄、アミノ酸およびビタミンからなる群より選択される塩を含む、請求項114に記載の支持体。
15

116. 前記遺伝子導入試薬は、カチオン性高分子、カチオン性脂質、ポリアミン系試薬、ポリイミン系試薬、リン酸カルシウム、オリゴフェクタミンおよびオリゴフェクターからなる群より選択される少なくともひとつの試薬を含む、請求項114に記載の支持体。
20

117. 前記アクチン作用物質は、フィブロネクチン、ラミニンおよびビトロネクチンからなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質またはその改変体もしくはフラグメントを含む、請求項114に記載の支持体。

118. 前記核酸分子は、サイトカイン、ホルモン、細胞接着因子、細胞骨格タンパク質および酵素からなる群より選択されるタンパク質をコードする配列を含む、請求項114に記載の支持体。
25

1 1 9. 前記細胞は、動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、細菌細胞および真菌細胞からなる群より選択される細胞を含む、請求項 1 1 4 に記載の支持体。

1 2 0. 前記支持体の材料は、ガラス、シリカ、およびプラスチックからなる群より選択される材料を含む、請求項 1 1 4 に記載の支持体。

5 1 2 1. 固定された複数の細胞を含み、かつ、該細胞の環境を同一に維持し得る支持体を生産する方法であって、

A) 支持体を提供する工程；および

B) 細胞を塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体を用いて該支持体上に固定する工程、

10 を含む、方法。

1 2 2. 前記固定工程は、前記塩と、前記正に荷電した物質としての遺伝子導入試薬と、アクチン作用物質と、前記負に荷電した物質としての核酸分子と、前記細胞との混合物を、アレイ状に固定することを含む、請求項 1 2 1 に記載の方法。

15 1 2 3. 前記固定工程は、プリント工程を含む、請求項 1 2 1 に記載の方法。

1 2 4. 前記支持体の提供は、支持体材料から該支持体を作製する工程を包含する、請求項 1 2 1 に記載の方法、。

20 1 2 5. 固定された複数の細胞を含み、かつ、該細胞の環境を同一に維持し得る支持体を生産する装置であって、

A) 支持体を提供する手段；および

B) 細胞を塩および正に荷電した物質と負に荷電した物質との複合体を用いて該支持体上に固定する手段

を備える、装置。

25 1 2 6. 前記固定手段は、プリント手段を含む、請求項 1 2 5 に記載の装置。

1 2 7. 前記支持体提供手段は、支持体材料から前記支持体を成型する手段を含む、請求項 1 2 5 に記載の装置。

1 2 8. デジタル細胞を生産する方法であって、

a) 実験対象の細胞を特定する細胞パラメータを取得する工程；

5 b) 該細胞パラメータによって特定された該細胞を培養する環境を特定する環境パラメータを取得する工程；

c) 該細胞パラメータによって特定された該細胞に与える刺激を特定する刺激パラメータを取得する工程；

10 d) 該環境パラメータによって特定された該環境下で該細胞パラメータによって特定された該細胞が該刺激パラメータによって特定された該刺激に対して応答した結果を示す刺激応答結果を取得する工程；

e) 該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータと該刺激応答結果とを関連づけることにより、該細胞に対する 1 つの実験データを生成する工程；および

15 f) 工程 a) ～工程 e) を必要に応じて繰り返すことにより、該細胞に対する少なくとも 1 つの実験データの集合を生成し、該少なくとも 1 つの実験データの集合をデジタル細胞として提供する工程；

を包含する、方法。

20 1 2 9. 前記環境パラメータは、前記細胞を培養する培地を示すパラメータと、前記培地の条件を示すパラメータとを含む、請求項 1 2 8 に記載の方法。

1 3 0. 前記刺激パラメータは、レポーターを示すパラメータと、化学刺激を示すパラメータとを含む、請求項 1 2 8 に記載の方法。

25 1 3 1. 前記刺激応答結果は、前記細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターすることによって得られる該細胞のプロファイルのデータを含む、請求項 1 2 8 に記載の方法。

1 3 2. 前記方法は、前記デジタル細胞をデータベースに格納する工程を

さらに包含する、請求項 1 2 8 に記載の方法。

1 3 3. デジタル細胞を生産する装置であって、

a) 実験対象の細胞を特定する細胞パラメータを取得する手段；

b) 該細胞パラメータによって特定された該細胞を培養する環境を特定する

5 環境パラメータを取得する手段；

c) 該細胞パラメータによって特定された該細胞に与える刺激を特定する刺激パラメータを取得する手段；

d) 該環境パラメータによって特定された該環境下で該細胞パラメータによって特定された該細胞が該刺激パラメータによって特定された該刺激に対して

10 応答した結果を示す刺激応答結果を取得する手段；

e) 該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータと該刺激応答結果とを関連づけることにより、該細胞に対する 1 つの実験データを生成する手段；および

f) 工程 a) ～工程 e) を必要に応じて繰り返すことにより、該細胞に対する
15 少なくとも 1 つの実験データの集合を生成し、該少なくとも 1 つの実験データの集合をデジタル細胞として提供する手段；

を備えた、装置。

1 3 4. サービスリクエスタとサービスプロバイダとを含むコンピュータシステムを用いて、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現

20 するサービスを提供する方法であって、

少なくとも 1 つのデジタル細胞を格納したデータベースを用意する工程であって、該少なくとも 1 つのデジタル細胞のそれぞれは、実験対象の細胞に対する少なくとも 1 つの実験データの集合によって表現されており、該少なくとも 1 つの実験データのそれぞれは、該細胞を特定する細胞パラメータと、該細胞
25 パラメータによって特定された該細胞を培養する環境を特定する環境パラメータと、該細胞パラメータによって特定された該細胞に与える刺激を特定する刺

激パラメータと、該環境パラメータによって特定された該環境下で該細胞パラメータによって特定された該細胞が該刺激パラメータによって特定された該刺激に対して応答した結果を示す刺激応答結果とを含む、工程；

該サービスリクエスタが、該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとを受け取り、該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとを含むリクエストを生成する工程；

該サービスリクエスタが、該リクエストを該サービスプロバイダに提供する工程；

該サービスプロバイダが、該リクエストに応答して該データベースを検索し、
10 該データベース内に該リクエストに含まれる該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとに関連する該刺激応答結果が存在するか否かを決定する工程；

該データベース内に該リクエストに含まれる該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとに関連する該刺激応答結果が存在すると決定された場合には、該サービスプロバイダが、該刺激応答結果を該サービスリクエスタに提供する工程；および

該サービスリクエスタが、該刺激応答結果を表示する工程；

を包含する、方法。

135. サービスリクエスタと複数のサービスプロバイダとを含むコンピュータシステムを用いて、デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供する方法であって、

少なくとも1つのデジタル細胞をそれぞれ格納した複数のデータベースを用意する工程であって、該少なくとも1つのデジタル細胞のそれぞれは、実験対象の細胞に対する少なくとも1つの実験データの集合によって表現されており、
25 該少なくとも1つの実験データのそれぞれは、該細胞を特定する細胞パラメータと、該細胞パラメータによって特定された該細胞を培養する環境を特定する

環境パラメータと、該細胞パラメータによって特定された該細胞に与える刺激を特定する刺激パラメータと、該環境パラメータによって特定された該環境下で該細胞パラメータによって特定された該細胞が該刺激パラメータによって特定された該刺激に対して応答した結果を示す刺激応答結果とを含む、工程；

- 5 該複数のサービスプロバイダが提供可能な少なくとも1つのサービスを登録したサービスレジストリを用意する工程；

該サービスリクエスタが、該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとを受け取り、該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとを含むリクエストを生成する工程；

- 10 該サービスリクエスタが、該リクエストに応答して該サービスレジストリを検索し、該複数のサービスプロバイダの中に該リクエストのサービスを提供可能なサービスプロバイダが存在するか否かを決定する工程；

該複数のサービスプロバイダの中に該リクエストのサービスを提供可能なサービスプロバイダが存在すると決定された場合には、該サービスリクエスタが、

- 15 該リクエストを該サービスプロバイダに提供する工程；

該サービスプロバイダが、該リクエストに応答して該データベースを検索し、該データベース内に該リクエストに含まれる該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとに関連する該刺激応答結果が存在するか否かを決定する工程；

- 20 該データベース内に該リクエストに含まれる該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとに関連する該刺激応答結果が存在すると決定された場合には、該サービスプロバイダが、該刺激応答結果を該サービスリクエスタに提供する工程；および

該サービスリクエスタが、該刺激応答結果を表示する工程；

- 25 を包含する、方法。

1 3 6. デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサ

ービスを提供するコンピュータシステムであって、

少なくとも1つのデジタル細胞を格納したデータベースにアクセス可能なように構成されたサービスプロバイダであって、該少なくとも1つのデジタル細胞のそれぞれは、実験対象の細胞に対する少なくとも1つの実験データの集合
5 によって表現されており、該少なくとも1つの実験データのそれぞれは、該細胞を特定する細胞パラメータと、該細胞パラメータによって特定された該細胞を培養する環境を特定する環境パラメータと、該細胞パラメータによって特定された該細胞に与える刺激を特定する刺激パラメータと、該環境パラメータによって特定された該環境下で該細胞パラメータによって特定された該細胞が該
10 刺激パラメータによって特定された該刺激に対して応答した結果を示す刺激応答結果とを含む、サービスプロバイダ；および

ユーザが所望するサービスをリクエストするサービスリクエスタ；
を備え、

該サービスリクエスタは、

15 該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとを受け取り、該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとを含むリクエストを生成する手段；および

該リクエストを該サービスプロバイダに提供する手段；
を含み、

20 該サービスプロバイダは、

該リクエストに応答して該データベースを検索し、該データベース内に該リクエストに含まれる該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとに関連する該刺激応答結果が存在するか否かを決定する手段；および

25 該データベース内に該リクエストに含まれる該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとに関連する該刺激応答結果が存在すると決定された場合には、該刺激応答結果を該サービスリクエスタに提供する手段；

を含み、

該サービスリクエストは、

該刺激応答結果を表示する手段；

をさらに含む、コンピュータシステム。

- 5 137. 前記サービスリクエストは、前記ユーザが操作するWebブラウザであり、前記サービスプロバイダは、インターネットを介して該サービスリクエストに接続されるWebサーバーである、請求項136に記載のコンピュータシステム。

- 10 138. 前記サービスリクエストは、XMLで記述した形式で前記リクエストを前記サービスプロバイダに提供する、請求項136に記載のコンピュータシステム。

139. 前記サービスプロバイダは、XMLで記述した形式で前記刺激応答結果を前記サービスリクエストに提供する、請求項136に記載のコンピュータシステム。

- 15 140. デジタル細胞を用いて現実の細胞に対する実験結果を再現するサービスを提供するコンピュータシステムであって、

複数のサービスプロバイダであって、該複数のサービスプロバイダのそれぞれは、少なくとも1つのデジタル細胞を格納したデータベースにアクセス可能なように構成されており、該少なくとも1つのデジタル細胞のそれぞれは、実験対象の細胞に対する少なくとも1つの実験データの集合によって表現されており、該少なくとも1つの実験データのそれぞれは、該細胞を特定する細胞パラメータと、該細胞パラメータによって特定された該細胞を培養する環境を特定する環境パラメータと、該細胞パラメータによって特定された該細胞に与える刺激を特定する刺激パラメータと、該環境パラメータによって特定された該環境下で該細胞パラメータによって特定された該細胞が該刺激パラメータによって特定された該刺激に対して応答した結果を示す刺激応答結果とを含む、複

20

25

数のサービスプロバイダ；

該複数のサービスプロバイダが提供可能な少なくとも1つのサービスを登録したサービスレジストリ；および

ユーザが所望するサービスをリクエストするサービスリクエスタ；

5 を備え、

該サービスリクエスタは、

該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとを受け取り、該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとを含むリクエストを生成する手段；

10 該リクエストに応答して該サービスレジストリを検索し、該複数のサービスプロバイダの中に該リクエストのサービスを提供可能なサービスプロバイダが存在するか否かを決定する手段；および

該複数のサービスプロバイダの中に該リクエストのサービスを提供可能なサービスプロバイダが存在すると決定された場合には、該リクエストを該サービスプロバイダに提供する手段；

15 を含み、

該複数のサービスプロバイダのそれぞれは、

該リクエストに応答して該データベースを検索し、該データベース内に該リクエストに含まれる該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとに関連する該刺激応答結果が存在するか否かを決定する手段；および

20 該データベース内に該リクエストに含まれる該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとに関連する該刺激応答結果が存在すると決定された場合には、該刺激応答結果を該サービスリクエスタに提供する手段；

該データベース内に該リクエストに含まれる該細胞パラメータと該環境パラメータと該刺激パラメータとに関連する該刺激応答結果が存在すると決定された場合には、該刺激応答結果を該サービスリクエスタに提供する手段；

を含み、

25 該サービスリクエスタは、

該刺激応答結果を表示する手段；

をさらに含む、コンピュータシステム。

1 4 1. 前記サービスリクエスタは、インターネットを介して前記ユーザが操作するWebブラウザに接続されるWebサーバーであり、前記複数のサービスプロバイダのそれぞれは、該インターネットを介して該サービスリクエスタに接続されるWebサーバーである、請求項1 4 0に記載のコンピュータシステム。

1 4 2. 前記サービスリクエスタは、XMLで記述した形式で前記リクエストを前記サービスプロバイダに提供する、請求項1 4 0に記載のコンピュータシステム。

10 1 4 3. 前記サービスプロバイダは、XMLで記述した形式で前記刺激応答結果を前記サービスリクエスタに提供する、請求項1 4 0に記載のコンピュータシステム。

1 4 4. 細胞の情報に関するプロファイルデータを生成する方法であって、

- a) 細胞を支持体上に固定して配置する工程；および
- 15 b) 該細胞上または該細胞内の生物学的因子またはその集合体を経時的にモニターして該細胞のプロファイルのデータを生成する工程；
- を包含する、方法。

図1

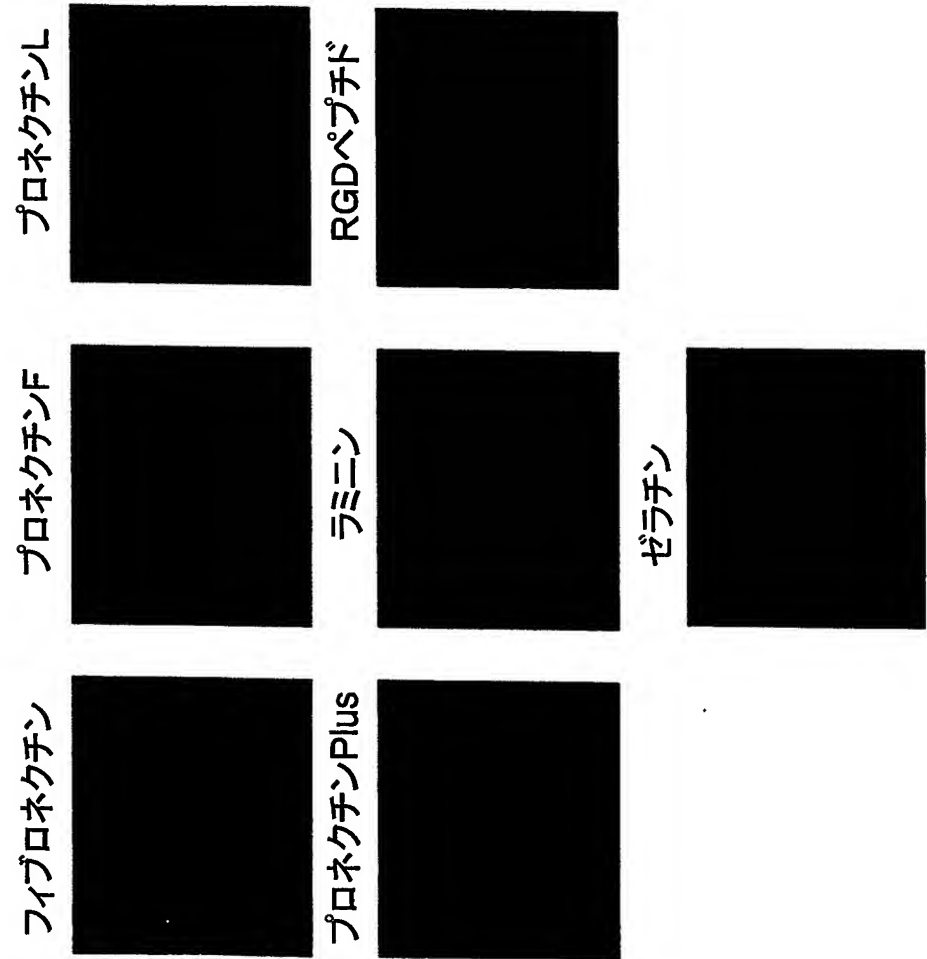


図 2

フィブロネクチン (43kDaフラグメント)



フィブロネクチン (72kDaフラグメント)

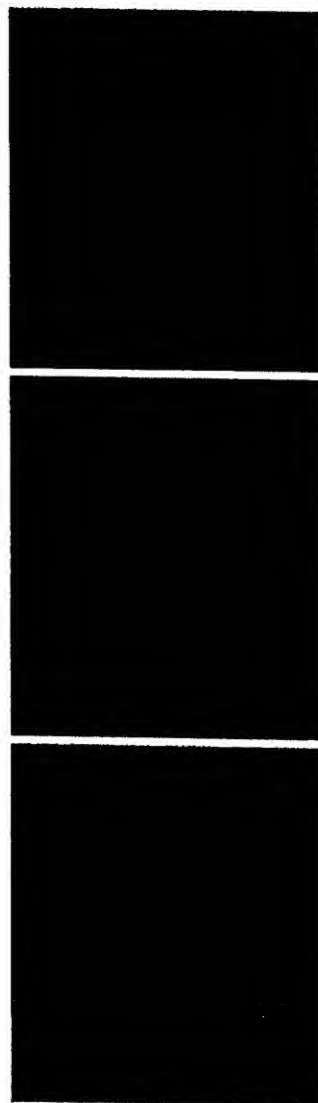


図3

フィブロネクチン最終濃度 (29kDaフラグメント)

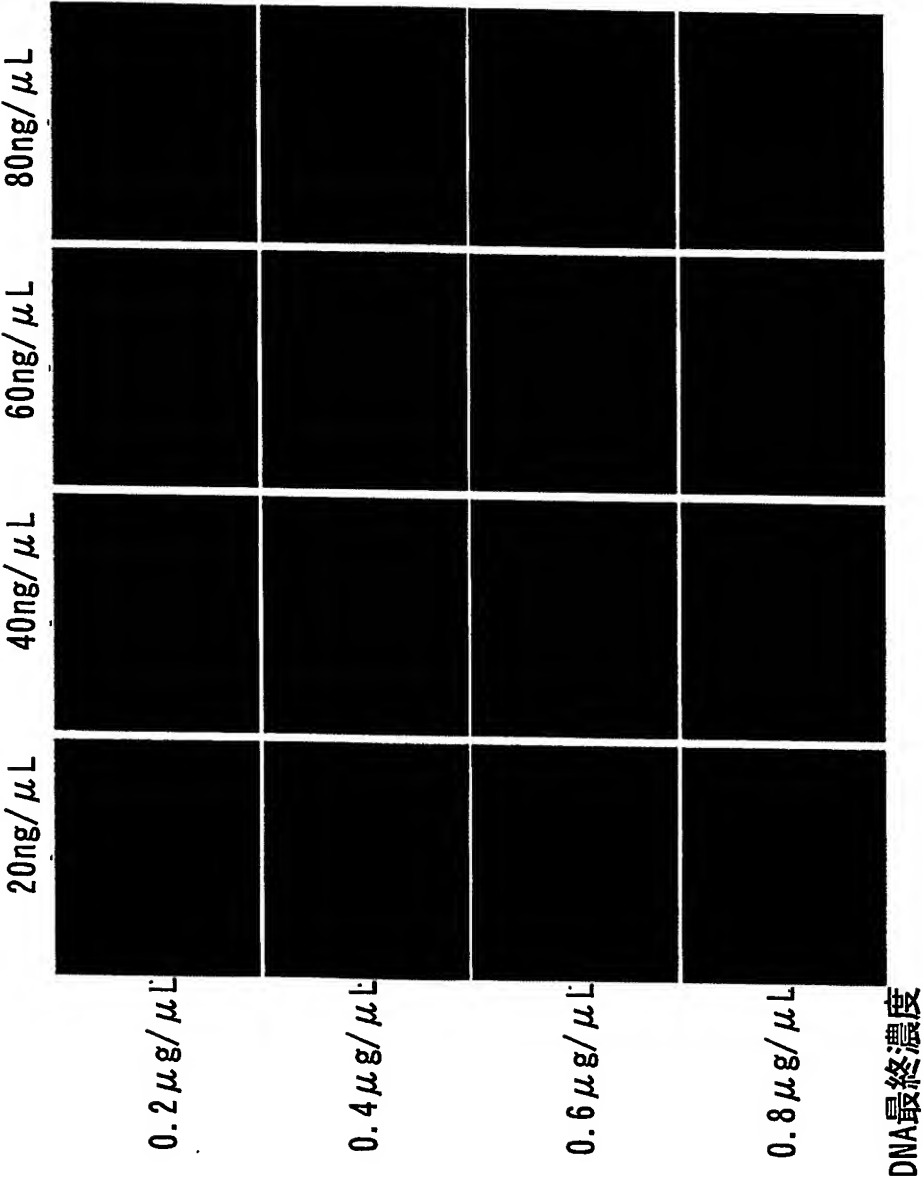


図 4

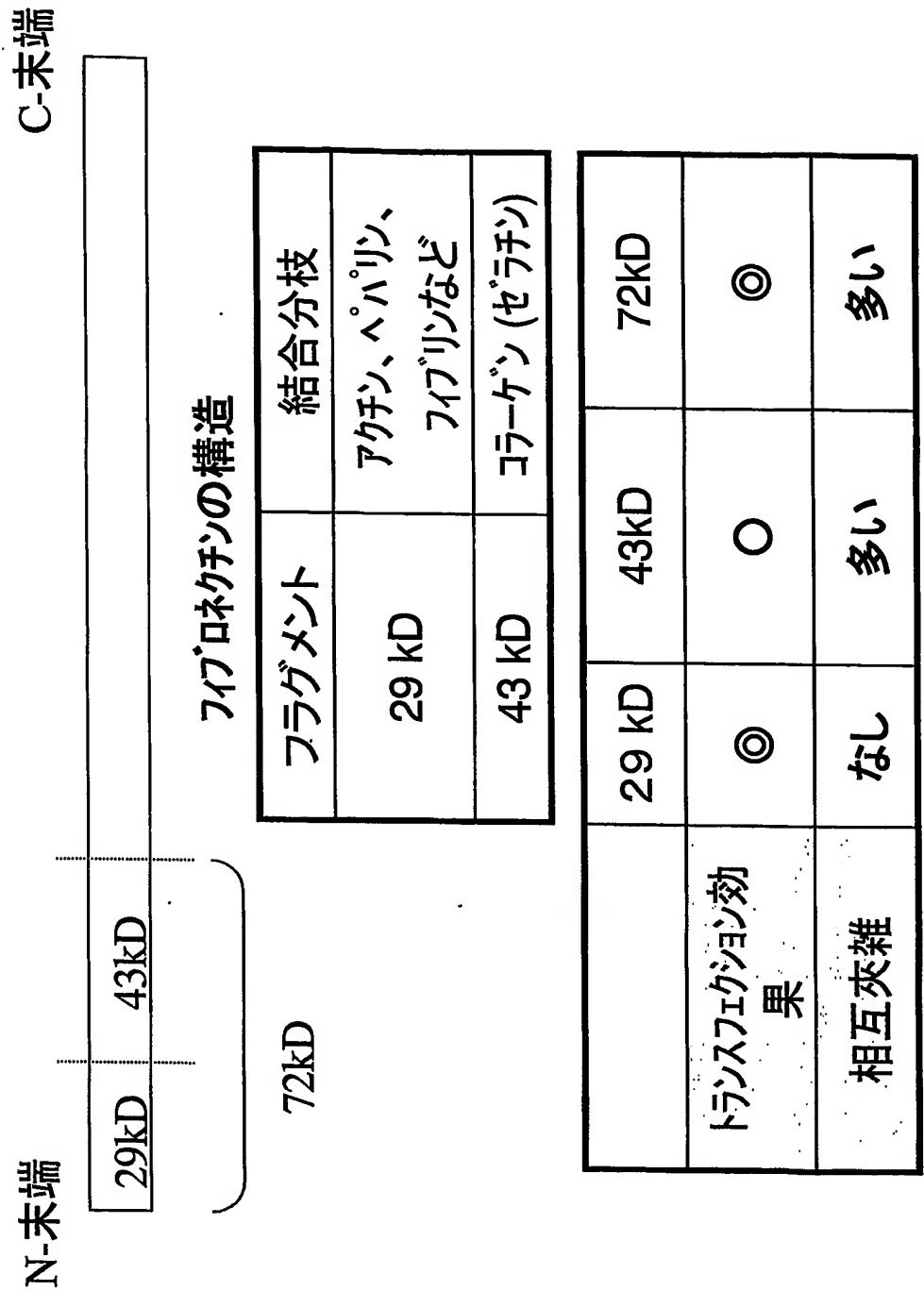


図 5

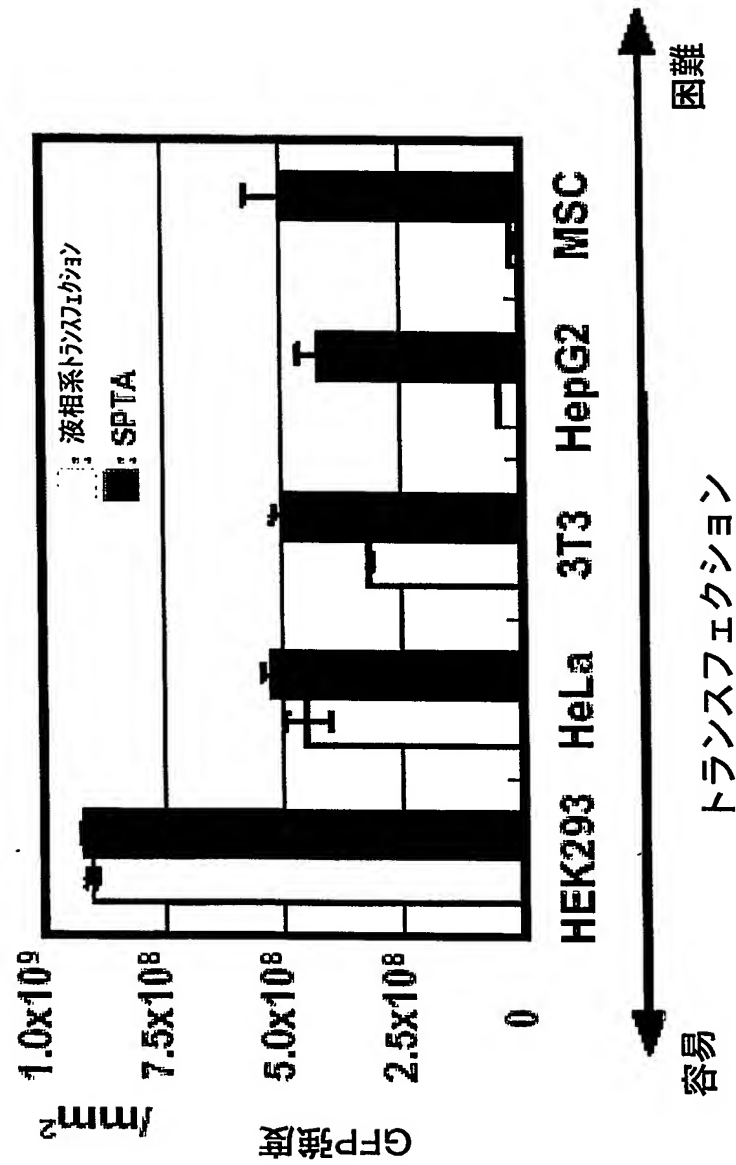


図 6

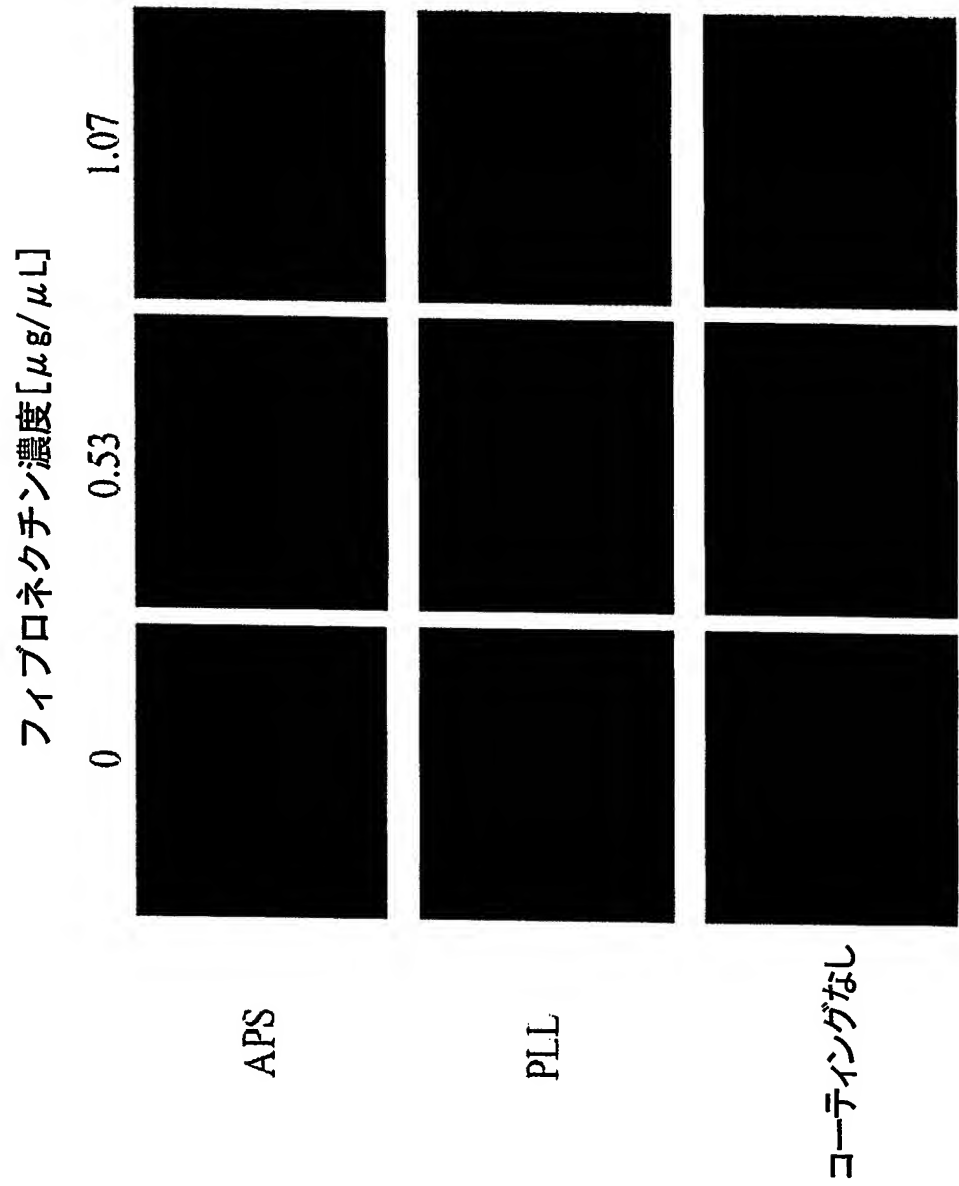
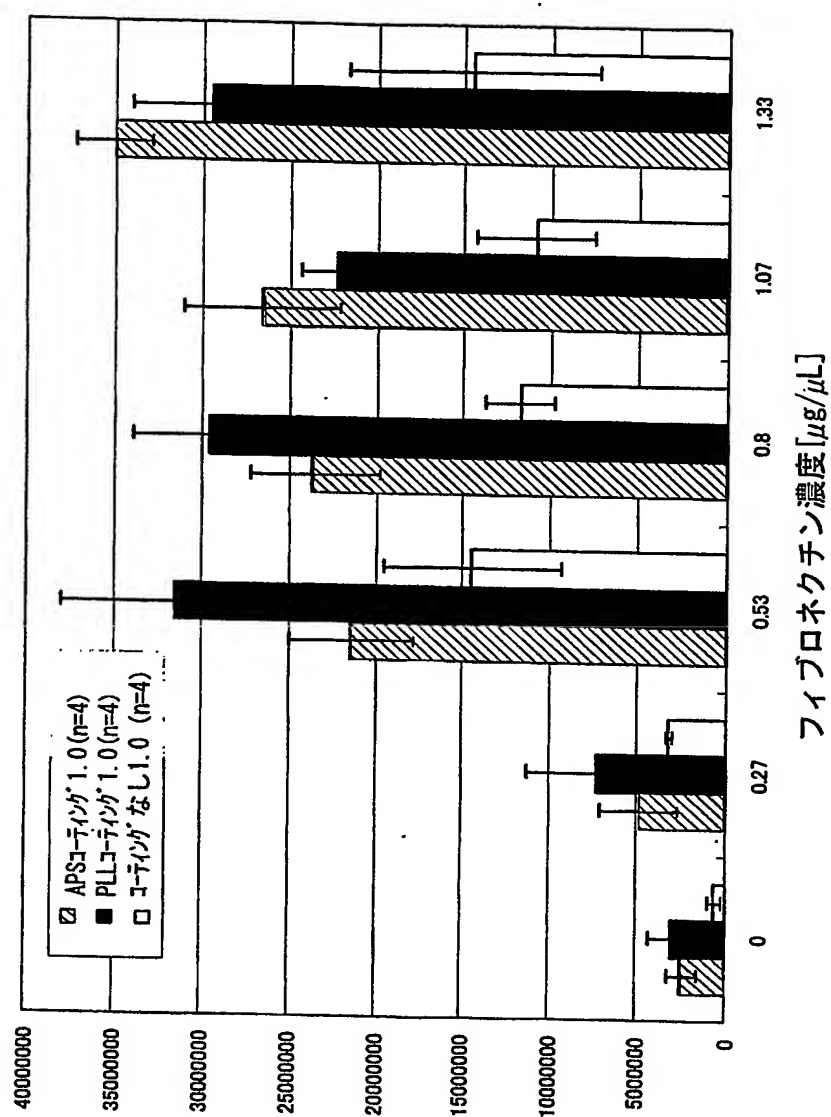
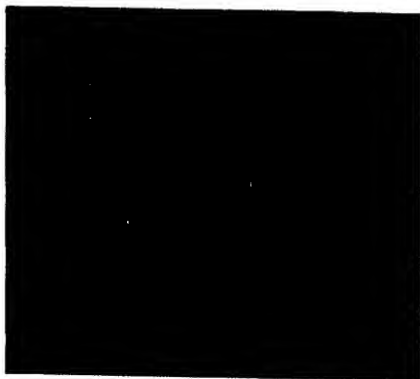


図7





フィブロネクチン (-)



フィブロネクチン (+)

図9

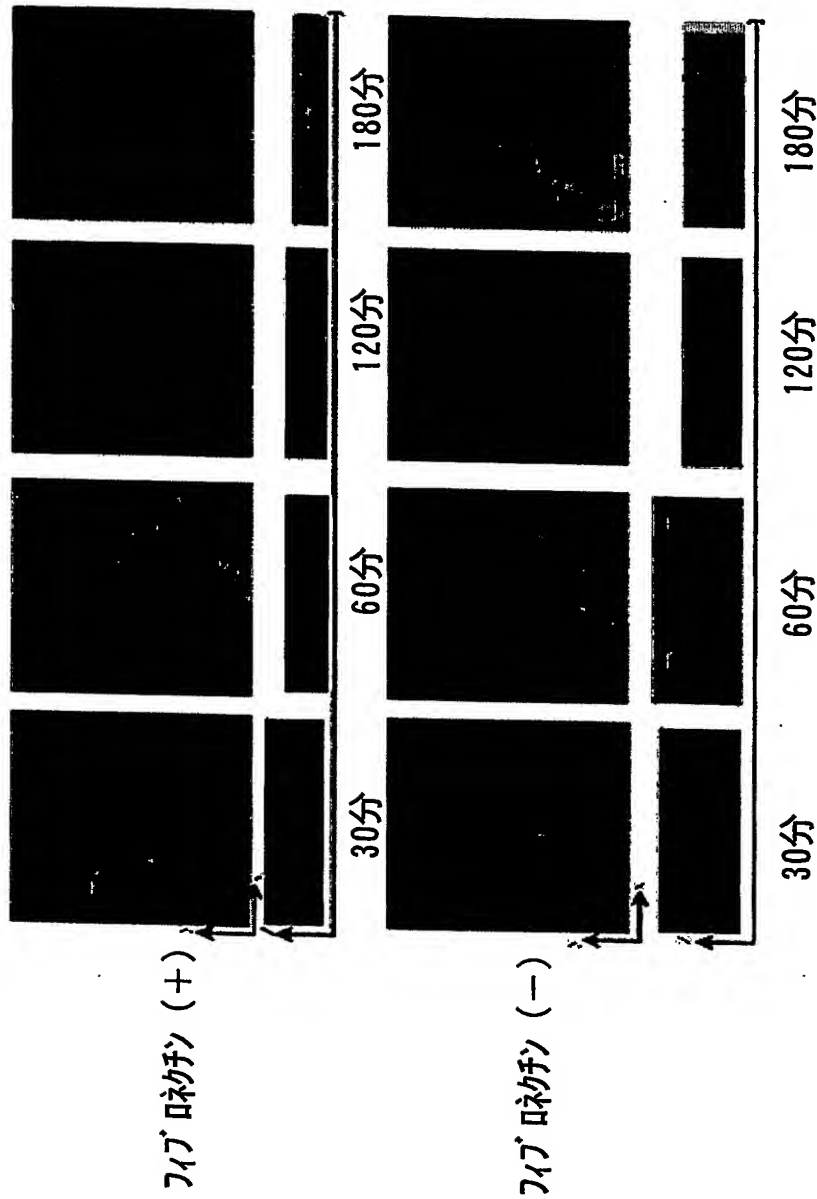


図 10

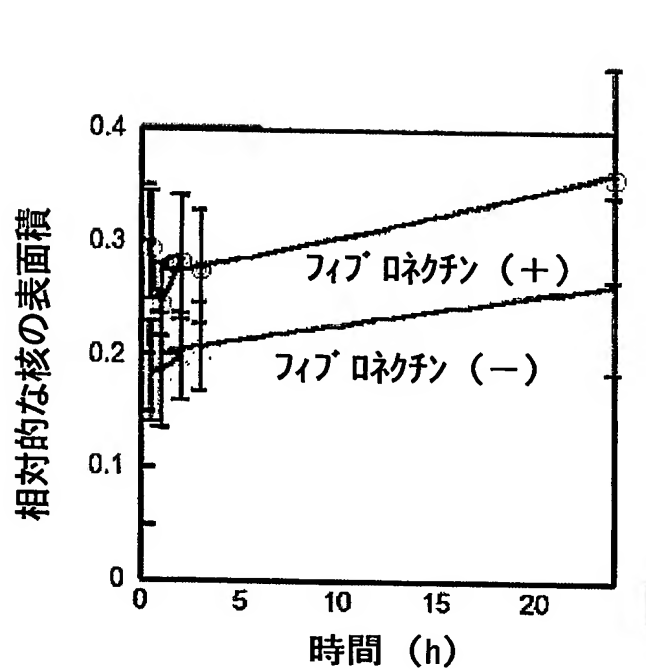


図10

図11

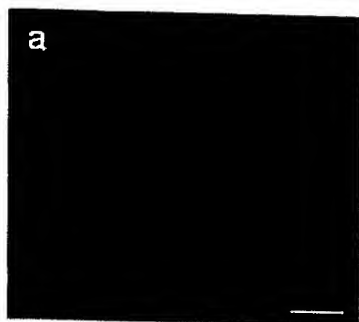


図12

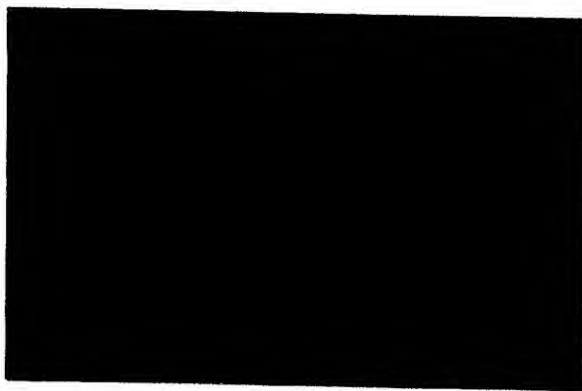


図13

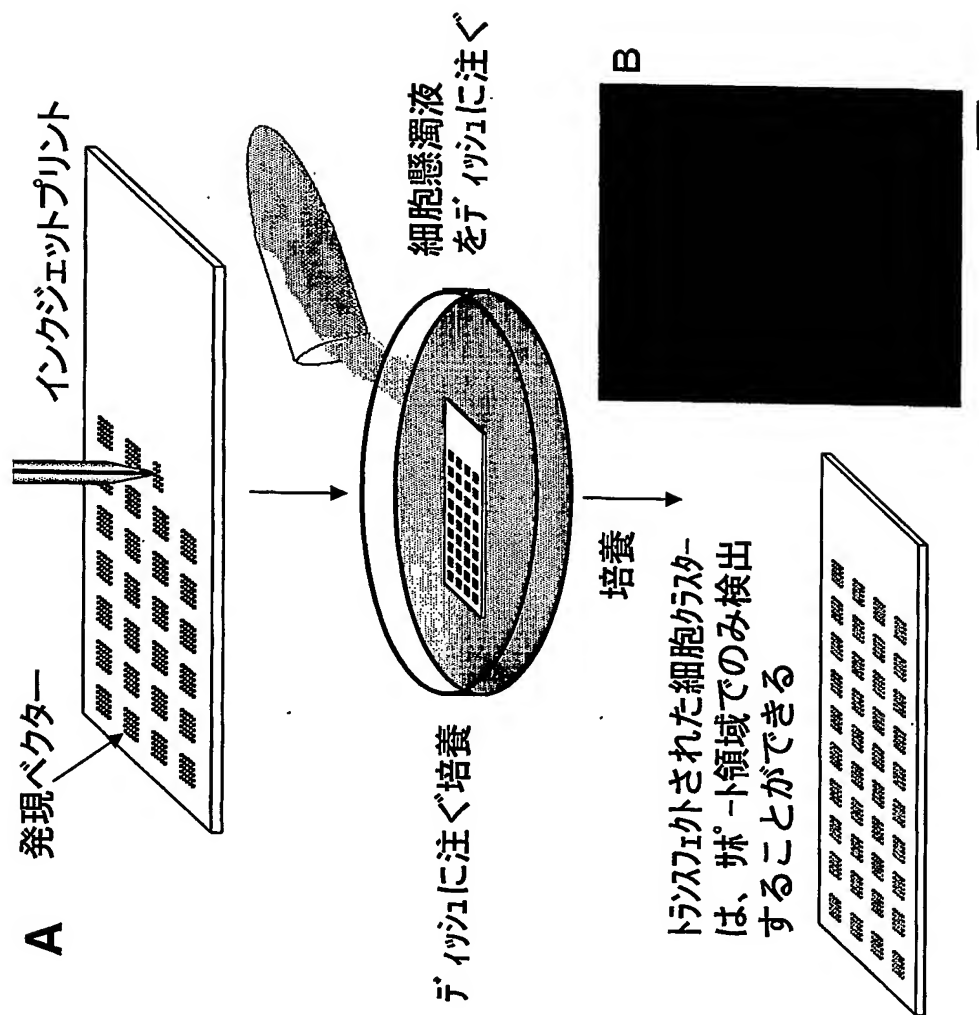
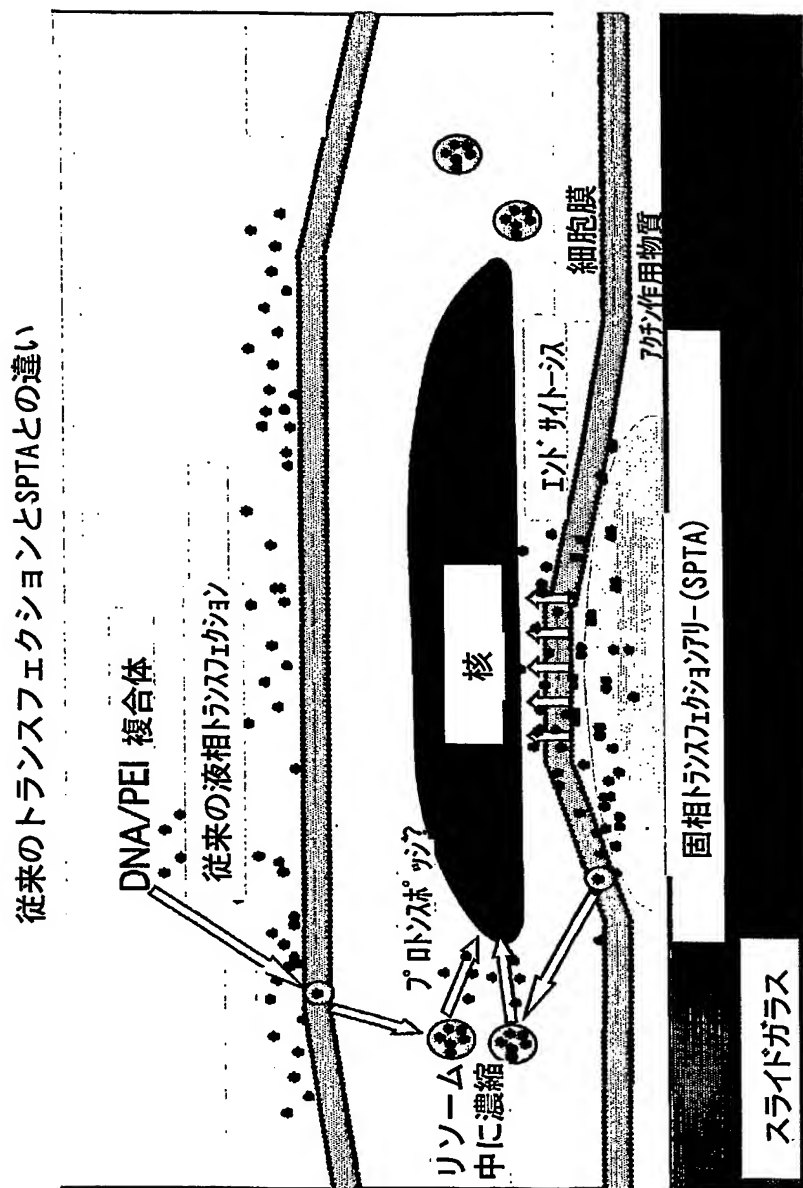


図13C



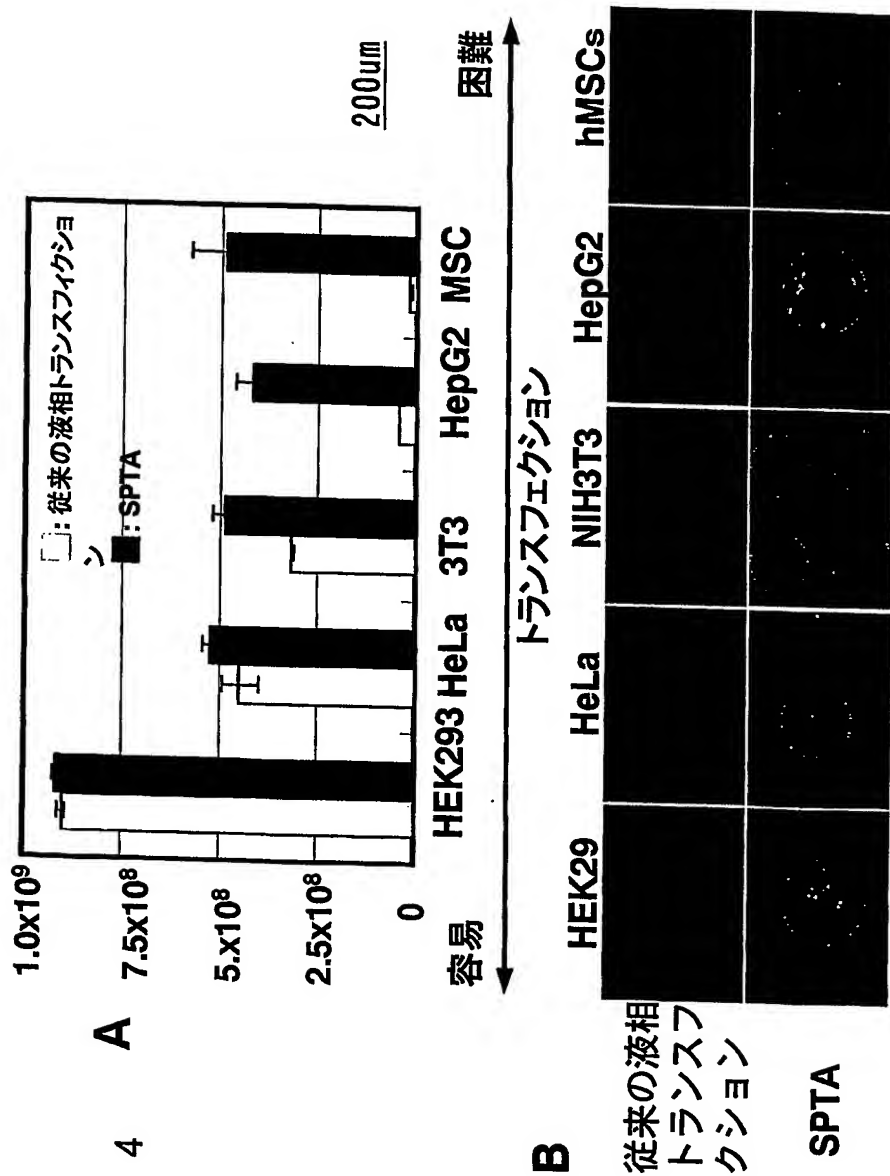


図 1 4 C

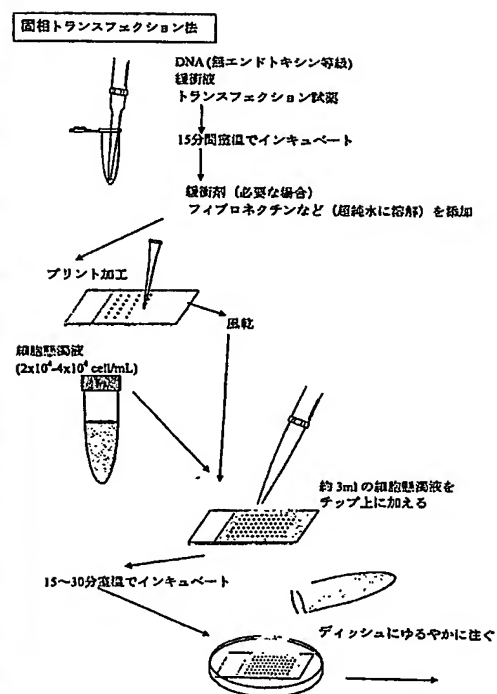


図14D

HEK293

DMEM (無血清)	9.5	μ L
プラスミド DNA (1mg/mL)	1.5	μ L
TransFast (1mg/mL)	9.0	μ L
DMEM (serum free)	5.0	μ L
フィブロネクチン(4mg/mL)	5.0	μ L
最終容量	30.0	μ L

HeLa, NIH3T3-3, HepG2

DMEM (無血清)	14.5	μ L
プラスミド DNA (1mg/mL)	1.5	μ L
Lipofectamine2000	4.5	μ L
DMEM (serum free)	5.0	μ L
フィブロネクチン(4mg/mL)	5.0	μ L
最終容量	30.0	μ L

hMSCs

	N/P=5	N/P=10	N/P=20	
DMEM (無血清)	12.75	12.0	10.5	μ L
プラスミド DNA (1mg/mL)	1.5	1.5	1.5	μ L
JetPEI (x4) conc.	0.75	1.5	3.0	μ L
フィブロネクチン(4mg/mL)	5.0	5.0	5.0	μ L
最終容量	20.0	20.0	20.0	μ L

HEK293 用スチーム

1.5mL マイクロチューブ

↓←DMEM

↓←プラスミド DNA

混合 2~8 日, 37°C, 5%CO₂ で
インキュベート

↓←TransFast

完全に混合し 15 分室温で

インキュベート

↓←DMEM

↓←フィブロネクチン

完全に混合

↓

プリント準備完了

HeLa, NIH3T3-3, および HepG2 用スチーム

1.5mL マイクロチューブ

↓←DMEM

↓←プラスミド DNA

混合

↓←Lipofectamine2000

完全に混合し 15 分室温で

インキュベート

↓←DMEM

↓←フィブロネクチン

完全に混合

↓

プリント準備完了

hMSCs 用スチーム

1.5mL マイクロチューブ

↓←DMEM

↓←プラスミド DNA

混合

↓←JetPEI

完全に混合し 15 分室温で

インキュベート

↓←フィブロネクチン

完全に混合

↓

プリント準備完了

図15

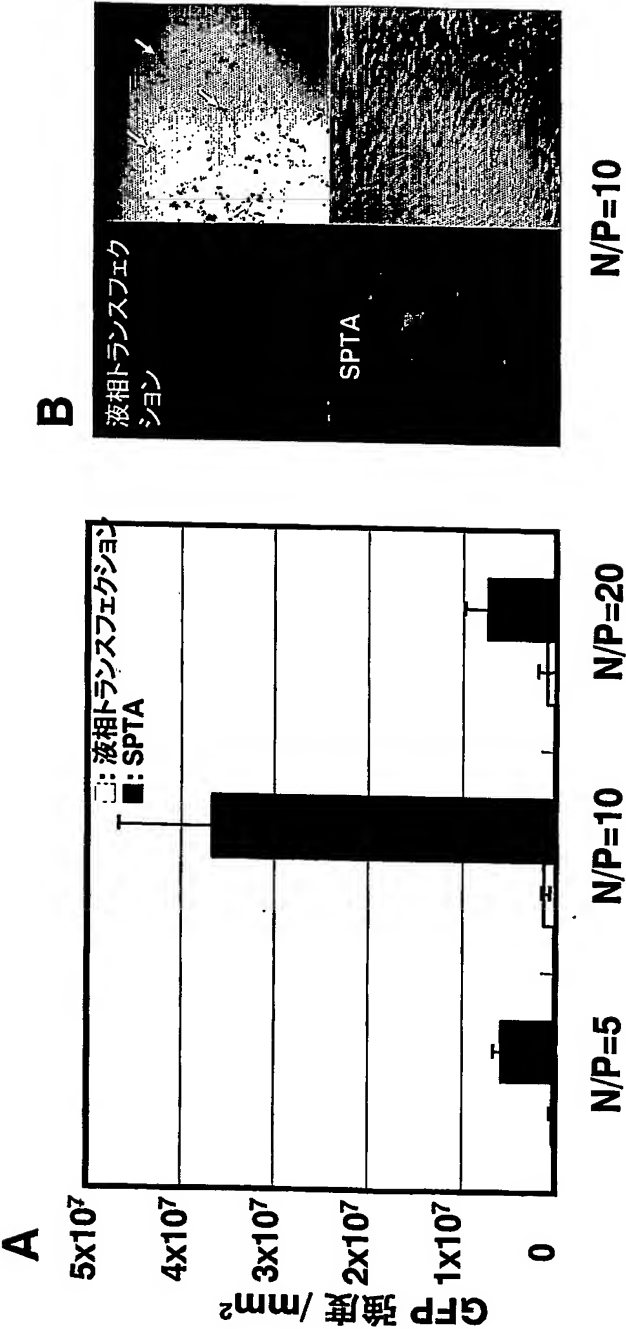
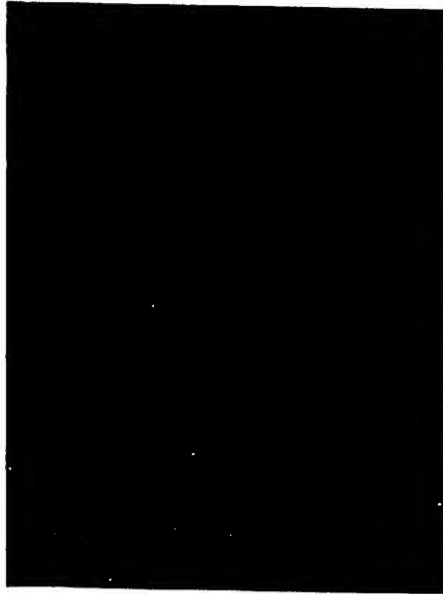


図16

A



B

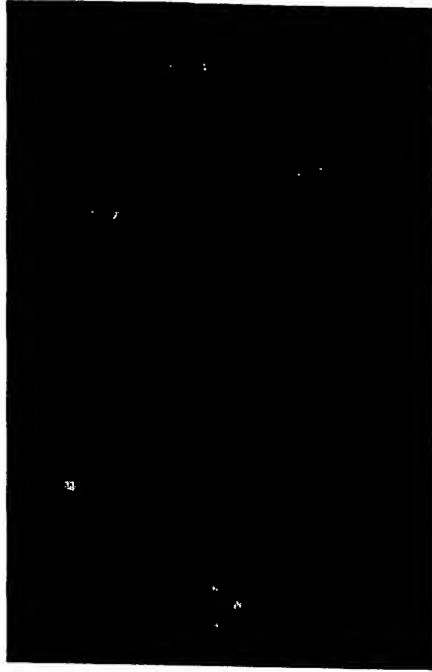


図16C

細胞数(浮遊数)						
	時間(分)					
	0	5	10	15	20	30
APS	235	220	202	157	170	162
APS+ゼラチン	212	206	184	145	158	183
APS+フィブロネクテン	229	198	183	132	100	85
APS+プロネクテンL	257	170	126	94	71	47
PLL	231	221	205	162	168	159
PLL+ゼラチン	218	208	186	151	146	158
PLL+フィブロネクテン	225	174	162	129	98	79
PLL+プロネクテンL	214	151	132	90	76	50
MAS	231	222	216	182	176	169
MAS+ゼラチン	224	198	182	163	159	162
MAS+フィブロネクテン	218	182	169	143	112	86
MAS+プロネクテンL	220	176	152	124	101	66
コーティングなし	228	218	208	192	183	164
細胞接着率						
	時間(分)					
	0	5	10	15	20	30
APS	0	6.382979	14.04255	33.19149	27.85957	31.08383
APS+ゼラチン	0	2.830189	13.20755	31.60377	26.41509	13.67925
APS+フィブロネクテン	0	13.53712	20.08734	42.35808	56.33188	62.8821
APS+プロネクテンL	0	33.85214	50.97276	63.42412	72.37354	81.71206
PLL	0	4.329004	11.25541	29.87013	27.27273	31.16883
PLL+ゼラチン	0	4.587158	14.6789	30.73394	33.02752	28.44037
PLL+フィブロネクテン	0	22.66667	28	42.66667	56.44444	64.88889
PLL+プロネクテンL	0	29.43925	38.31776	57.94393	64.48598	76.63551
MAS	0	3.896104	6.493506	21.21212	23.80952	26.83983
MAS+ゼラチン	0	11.60714	18.75	27.23214	29.01786	27.67857
MAS+フィブロネクテン	0	16.51378	22.47708	34.40387	48.62385	60.55046
MAS+プロネクテンL	0	20	30.90909	43.63636	54.09091	70
コーティングなし	0	4.424779	7.964602	15.04425	19.02655	27.43363

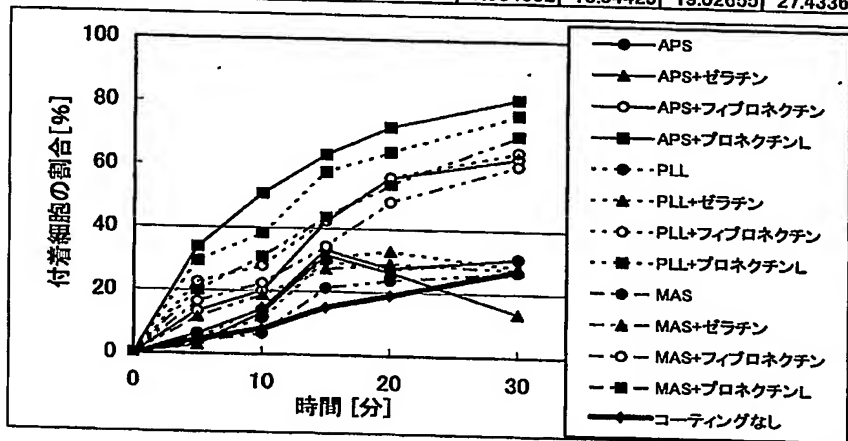


図16D

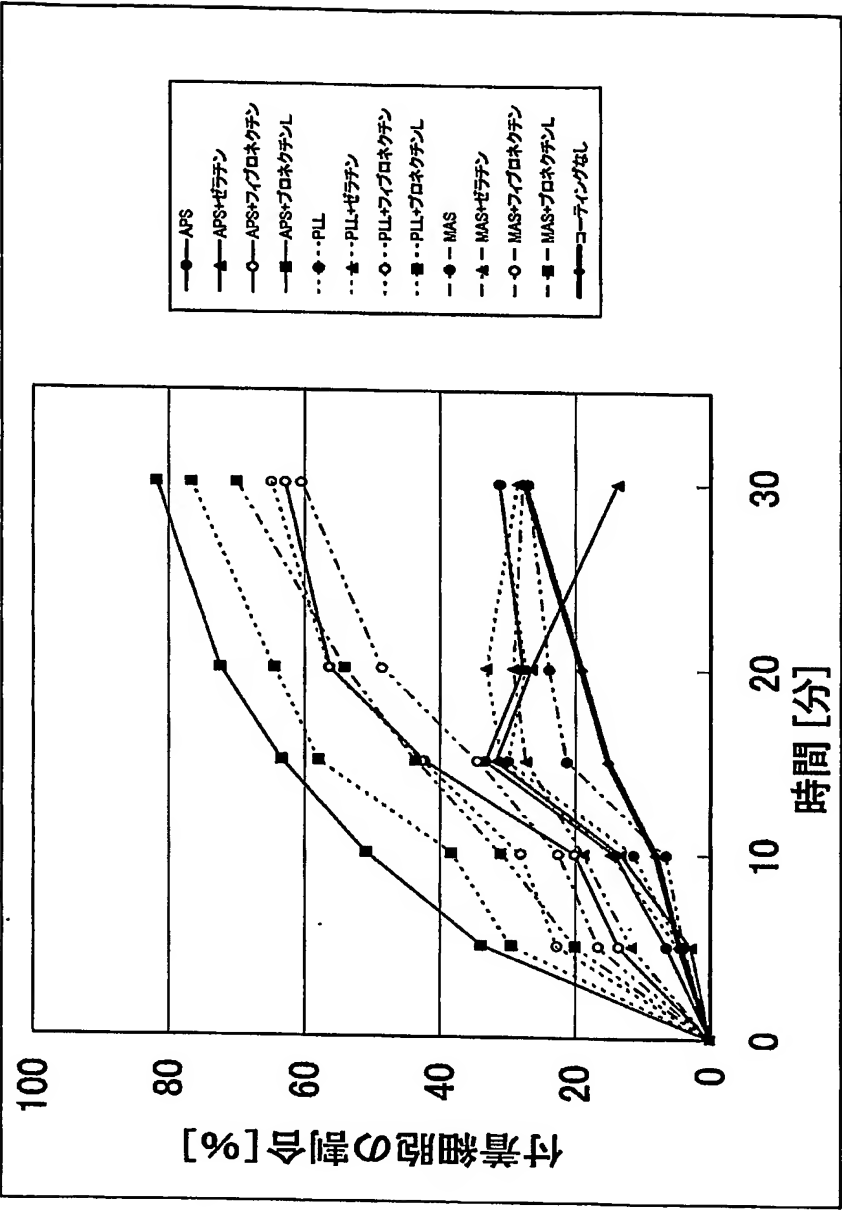


図17

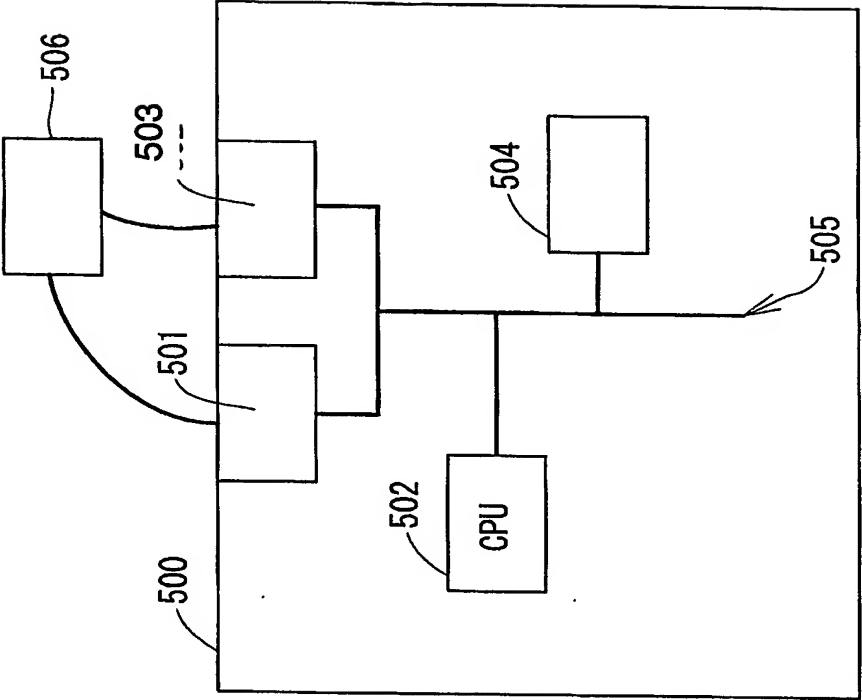
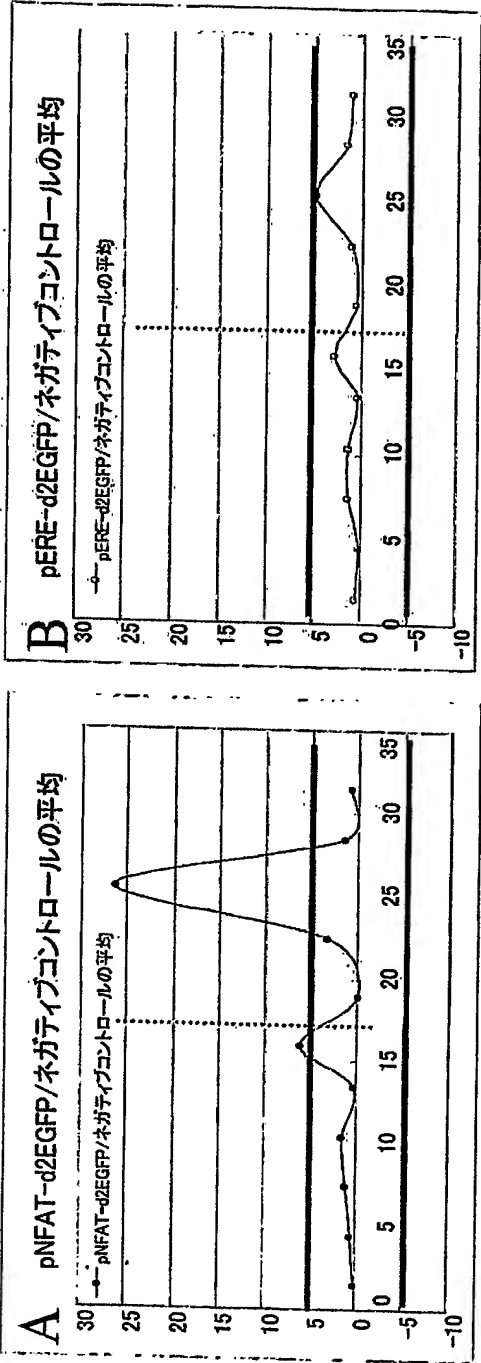


図18A

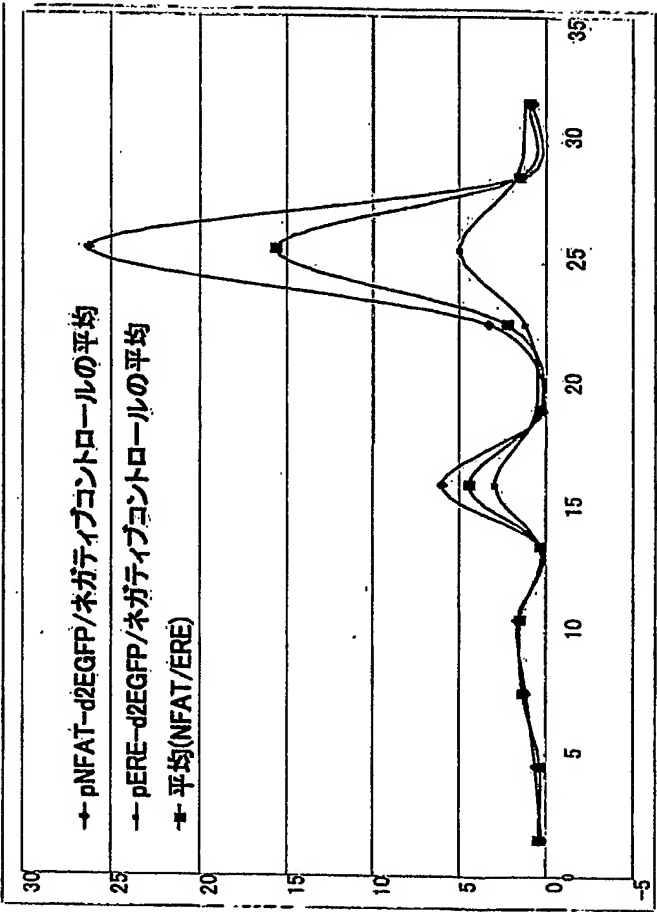
数理的解析法



	0-31.5時間	17.5-31.5時間	0-17.5時間
A	+	+	+
B	+	+	-

図18B

数理的解析法



	0-31.5時間	17.5-31.5時間	0-17.5時間
NEAT	+	+	+
ERE	+	-	-
NEAT/ERE	+	+	-

図19

pNFAT- α 2EGFP
pMyc- α 2EGFP
pAP1- α 2EGFP
pSRE- α 2EGFP
pGRE- α 2EGFP
pCRE- α 2EGFP
pNFKB- α 2EGFP
pAP1(PMA)- α 2EGFP
pERE- α 2EGFP
pRARE- α 2EGFP
pTRE- α 2EGFP
pE2F- α 2EGFP
pp53- α 2EGFP
pRb- α 2EGFP
pGAS- α 2EGFP
pSRE- α 2EGFP

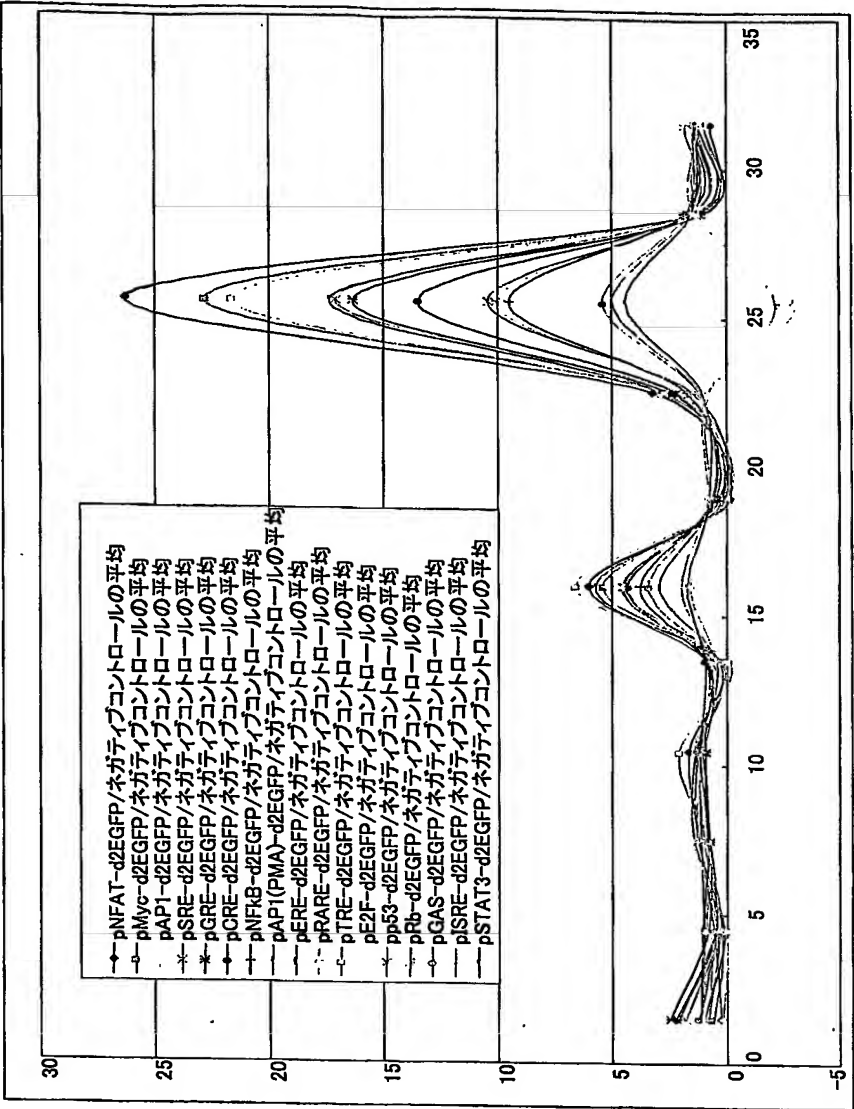
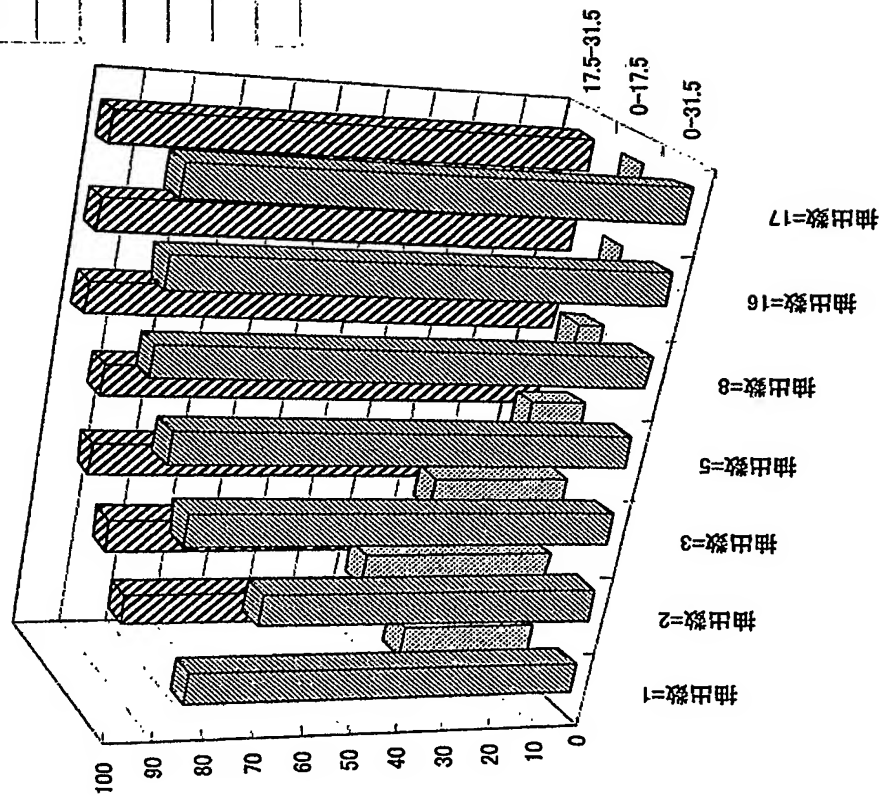


図20



TH=5	Day0-1			
	分化誘導	0-31.5	0-17.5	17.5-31.5
	抽出数=1	82.35294	29.41176	82.35294
	抽出数=2	70.58824	41.17647	88.23529
	抽出数=3	88.23529	29.41176	94.11765
	抽出数=5	94.11765	11.76471	94.11765
	抽出数=8	100	5.882353	100
	抽出数=16	100	0	100
	抽出数=17	100	0	100

図21

分化誘導なし	0-31.5	0-17.5	17.5-31.5
抽出数=1	5.882353	5.882353	0
抽出数=2	0	0	0
抽出数=3	0	0	0
抽出数=5	0	0	0
抽出数=8	0	0	0
抽出数=16	0	0	0
抽出数=17	0	0	0

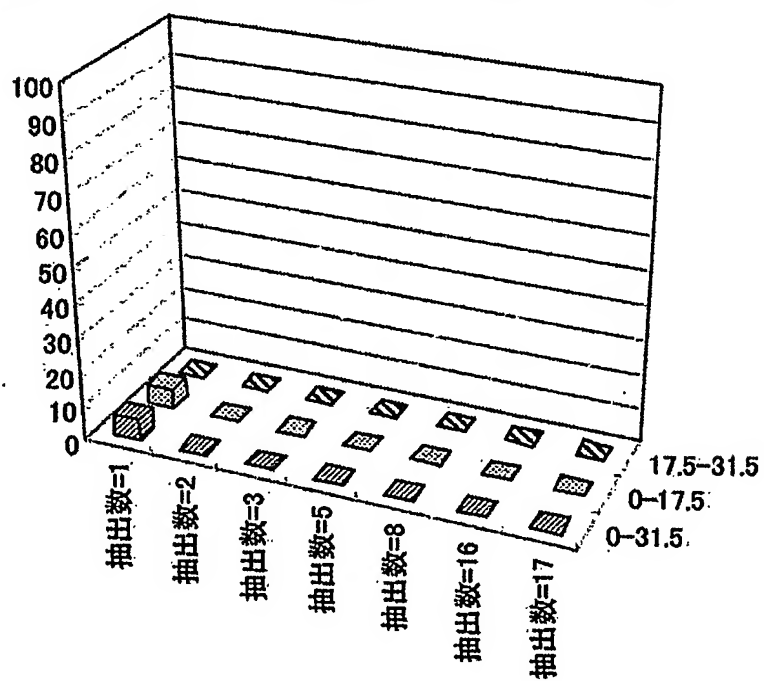


図22

細胞機能形成とカクテルパーティープロセス

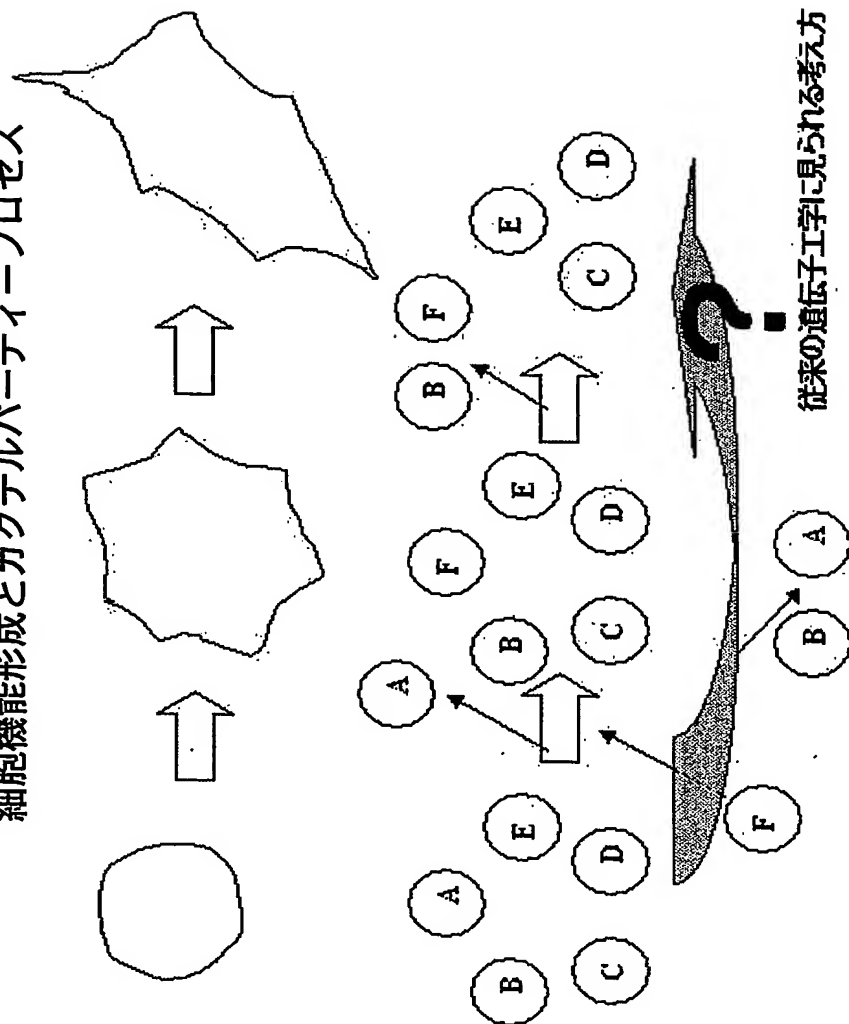


図23

遺伝子転写スイッチポーター

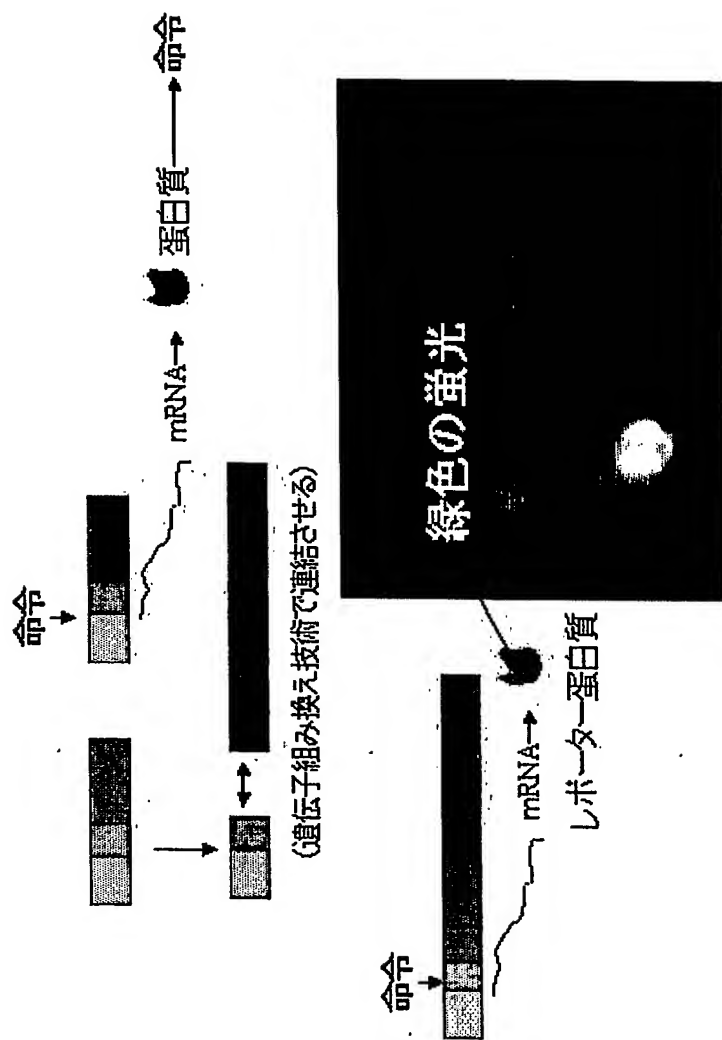
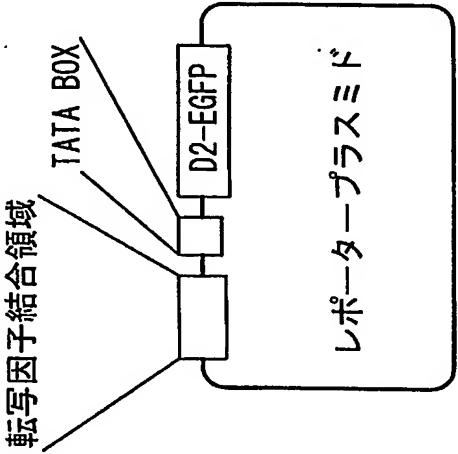


図24

転写因子レポーターセットの構築



ベクター各	経路	転写因子	シス作用性 エンハンサーエレメント
p NFKB-d2FGFP	IKK/NFKB	NFKB	kB
pAP1-d2FGFP	SAPK/JNK	c-Jun, c-Fos	AP1
pSRF-d2FGFP	MAPK/JNK, MAPK/FRK	Flk-1, STAT, TCF, SRF	SRF
pGRF-d2FGFP	グリコシルコイド* (HXP90媒介)	GR	GRF
pORF-d2FGFP	PKA/GRFB, JNK/p38 PKA	ATF2/ORFB	CRF
pMyc-TA-d2FGFP, pMYC-d2FGFP	細胞周期	c-myc	F-box
pHSF-d2FGFP	HSF	HSF	HSF
pNFAT-d2FGFP	NFAT/カルシウム/PLC	NFAT	NFAT
pAP1 (PMA)-TA-d2FGFP	PKC		AP1 (PMA)
pRb-TA-d2FGFP	細胞周期		Rb
pF2F-TA-d2FGFP	細胞周期		F2F
p53-TA-d2FGFP	細胞周期7ポイント		P53
p GAN-TA-d2FGFP	JAK/STAT	STAT1/STAT1	GAS
pISR-TA-d2FGFP	JAK/STAT	STAT2/STAT1	ISR
pSTAT3-TA-d2FGFP	JAK/STAT	STAT3/STAT3	STAT3
pFRF-TA-d2FGFP	エストロゲンレセプター		FRF
pRAR-TA-d2FGFP	レチノン酸		RAR
pTRF-TA-d2FGFP	甲状腺レセプター		TRF

25

転写因子レポーターのアッセイ

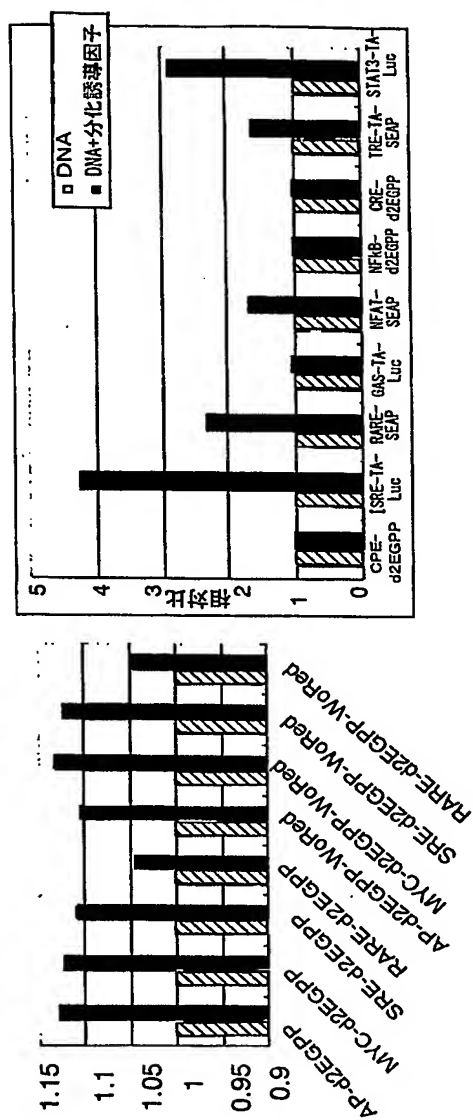
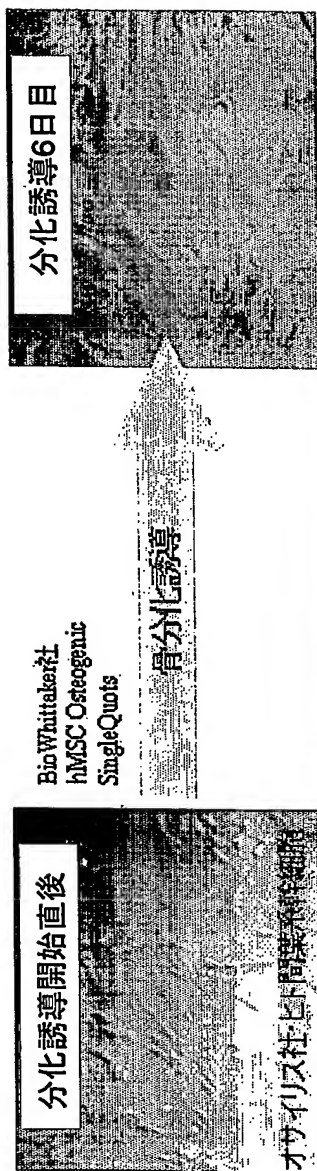


図26

骨分化過程における
転写因子活性の時系列測定



連続モニタリング用TFアレイ培養チャンバー

図27

転写因子活性の振動現象と位相解析

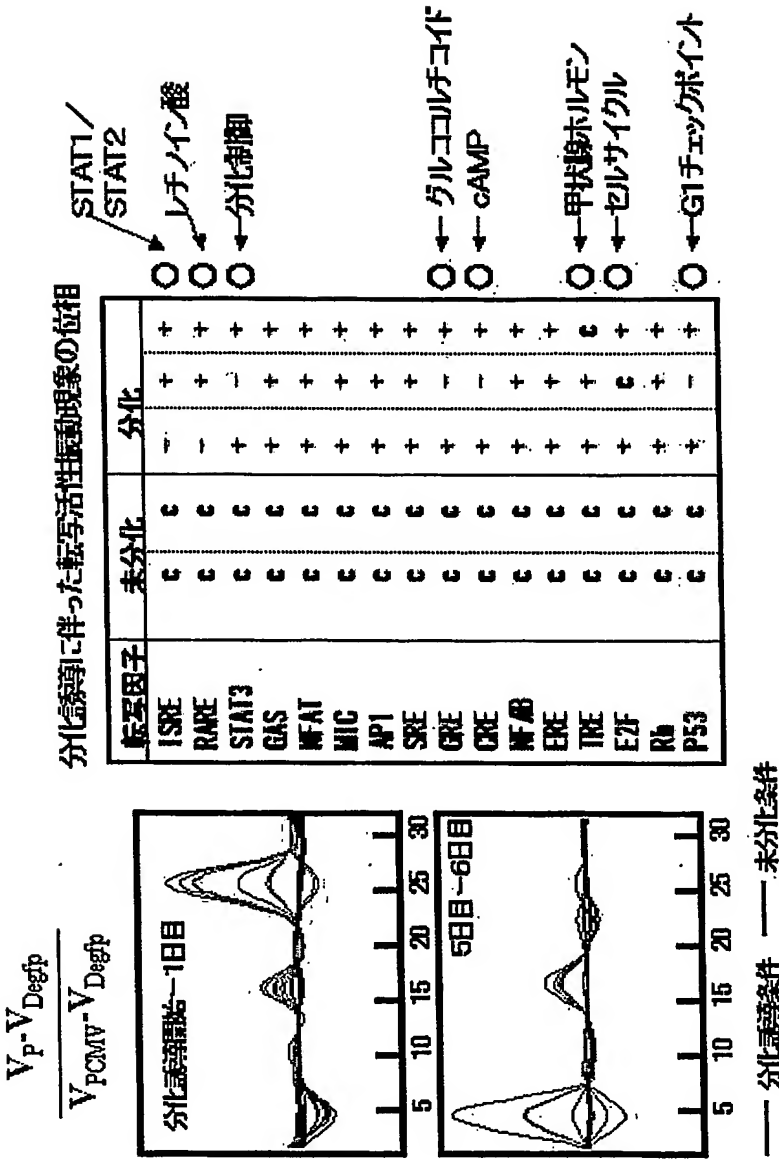


図28

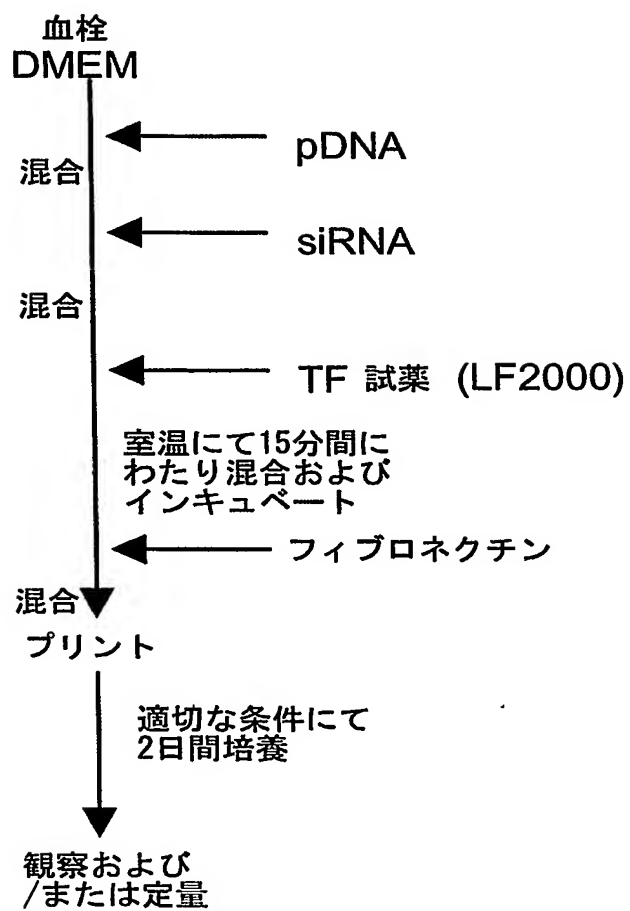


図29A

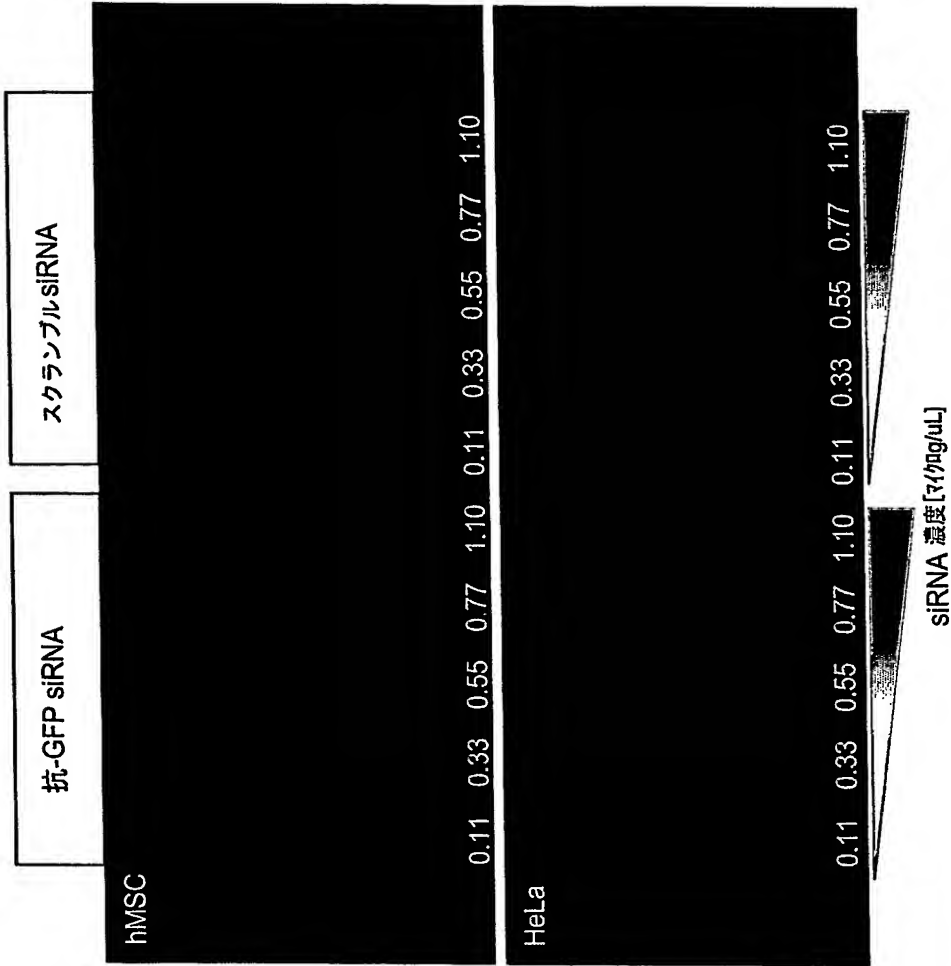


図29B

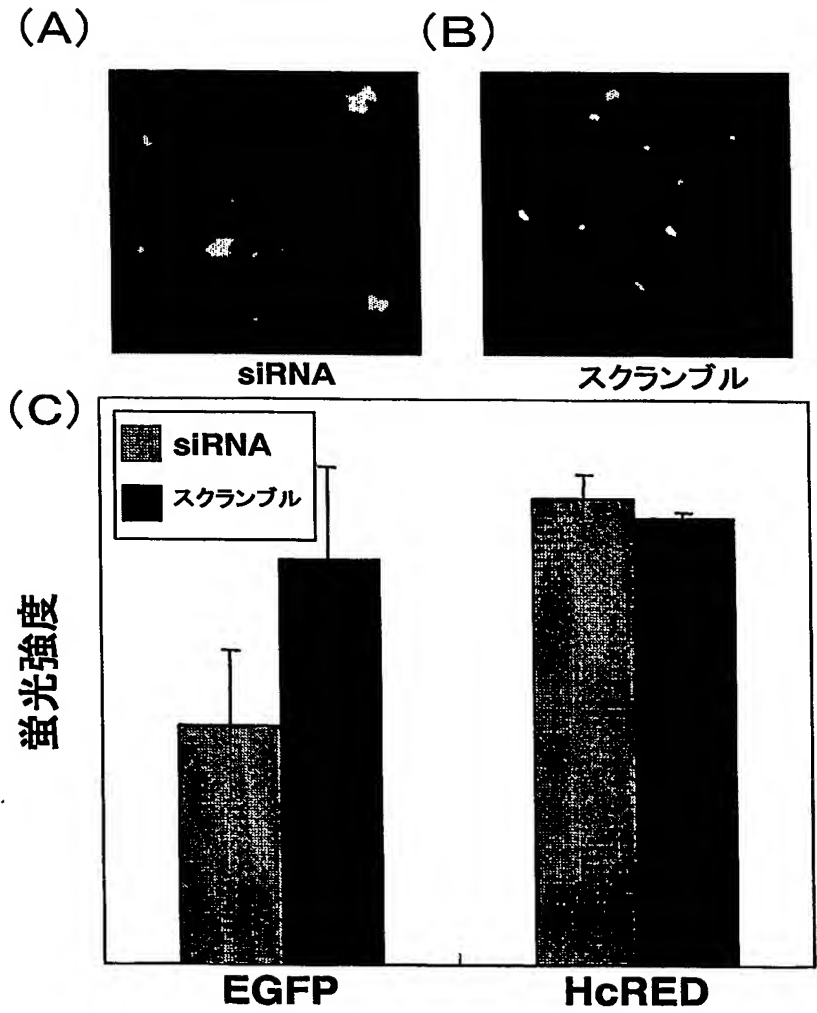
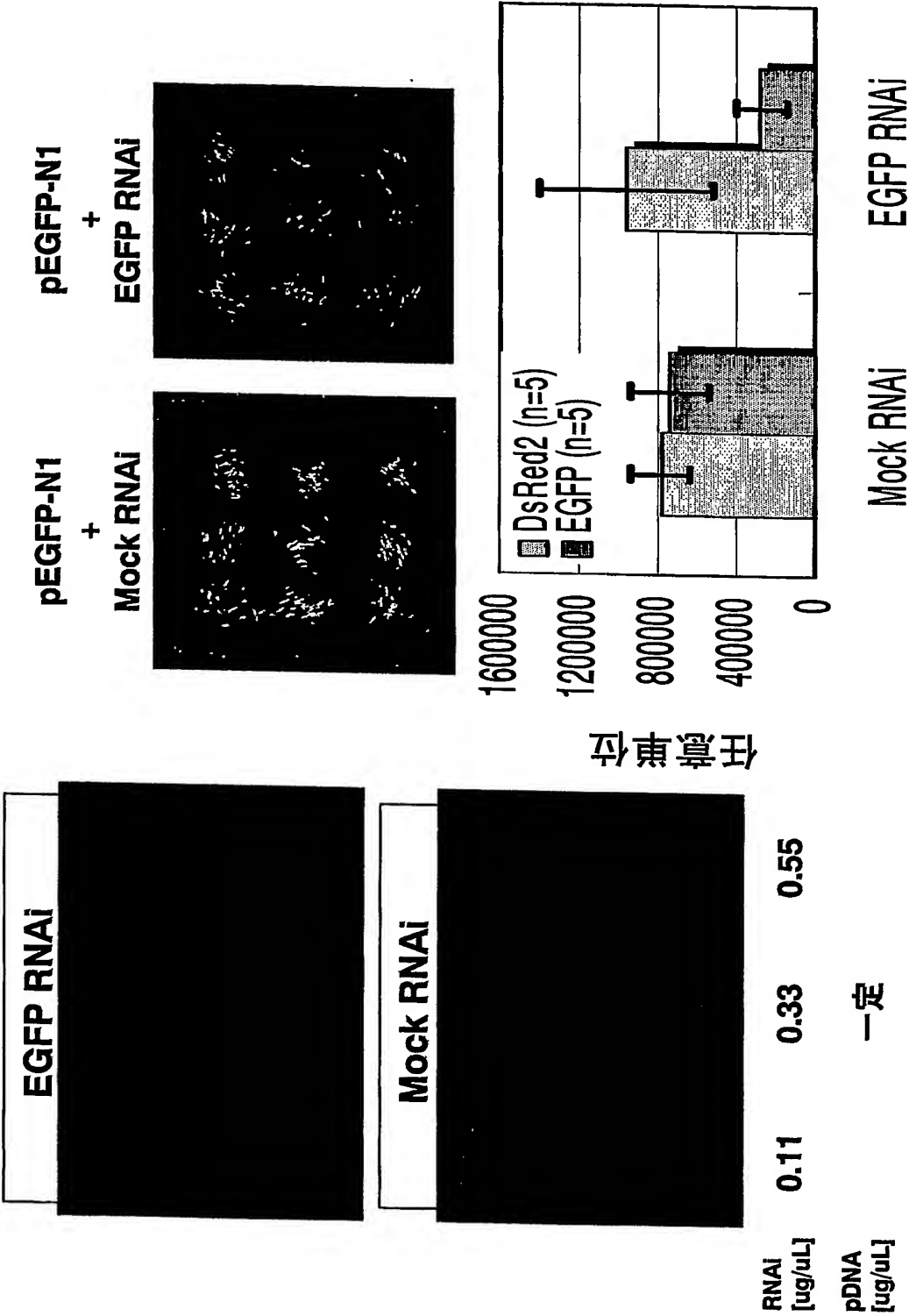


図29C

Transfection MicroArray™の細胞ベースのRNAiアッセイ



29E

U251

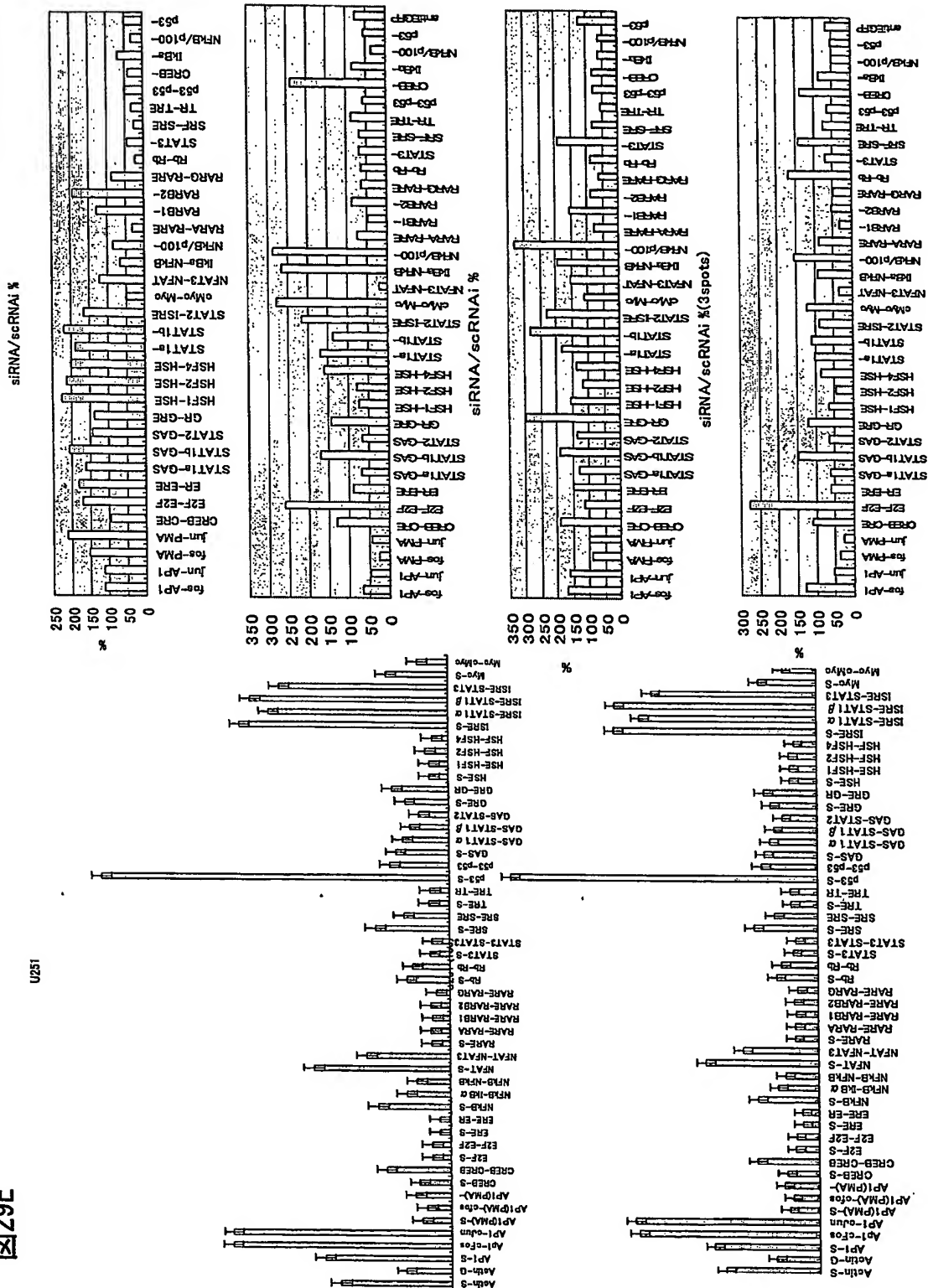
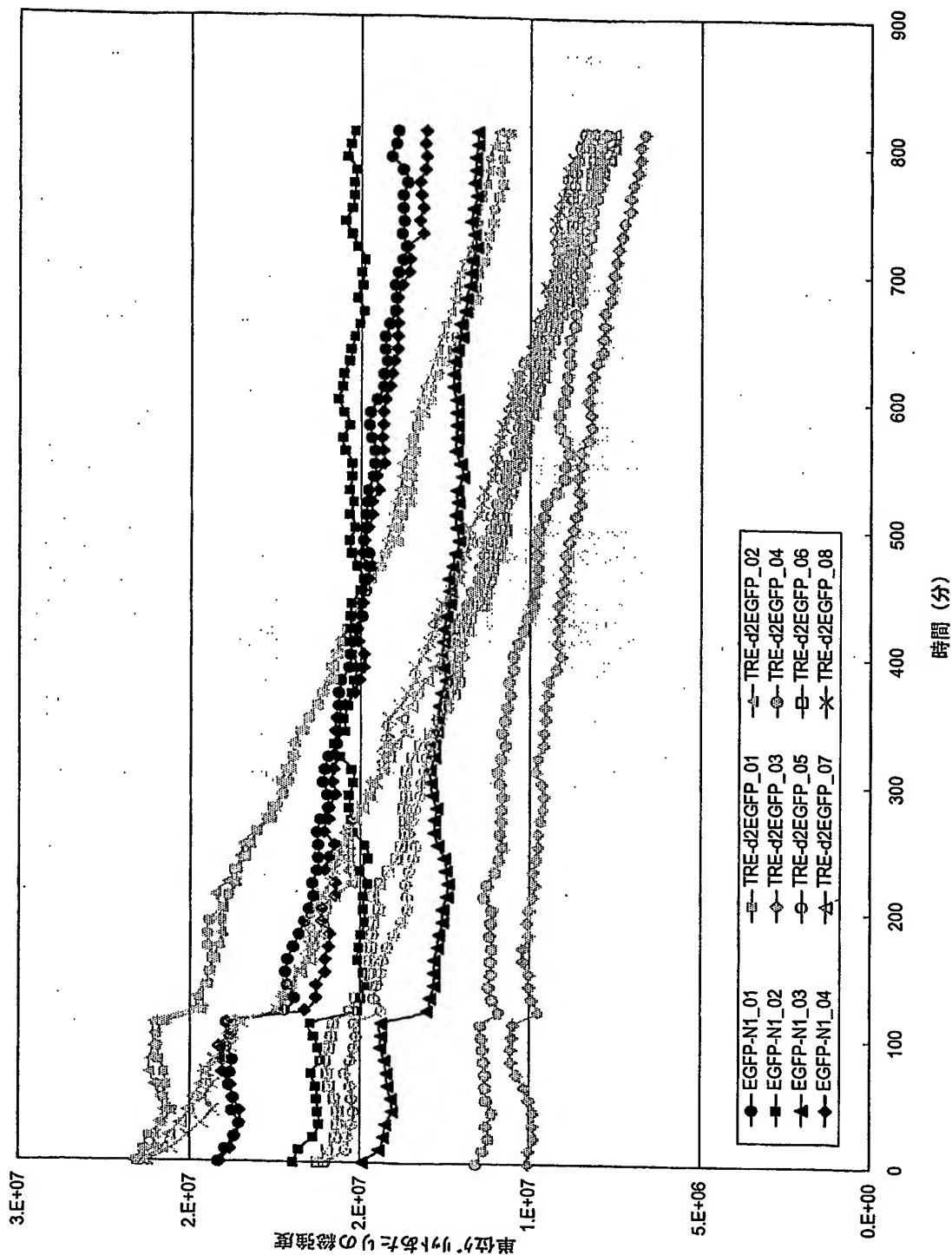
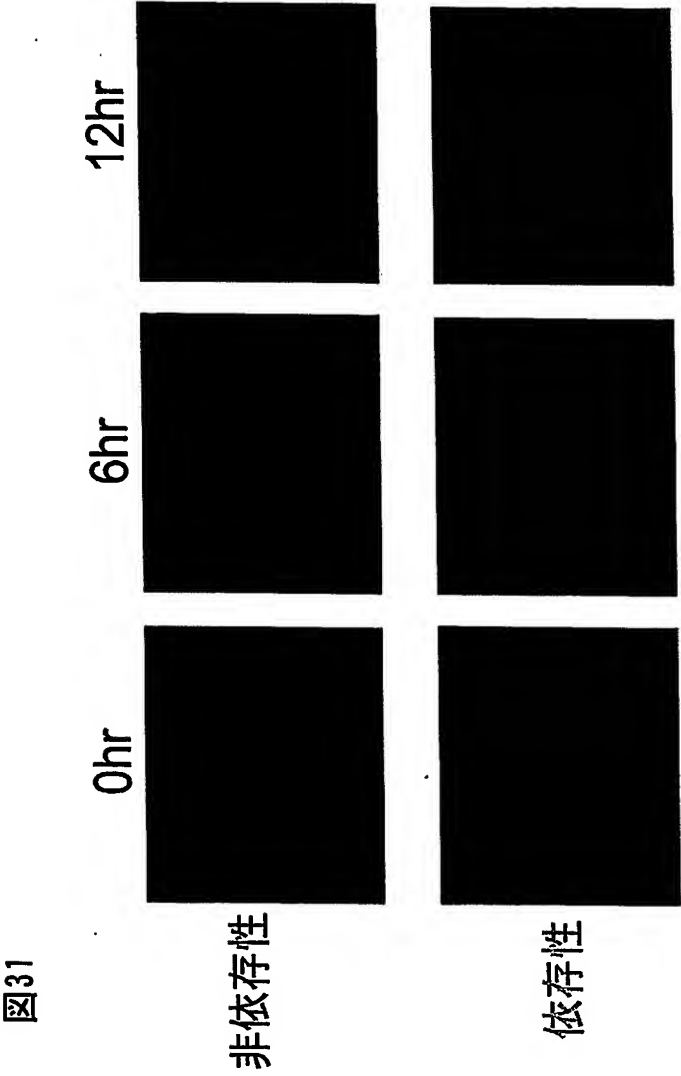
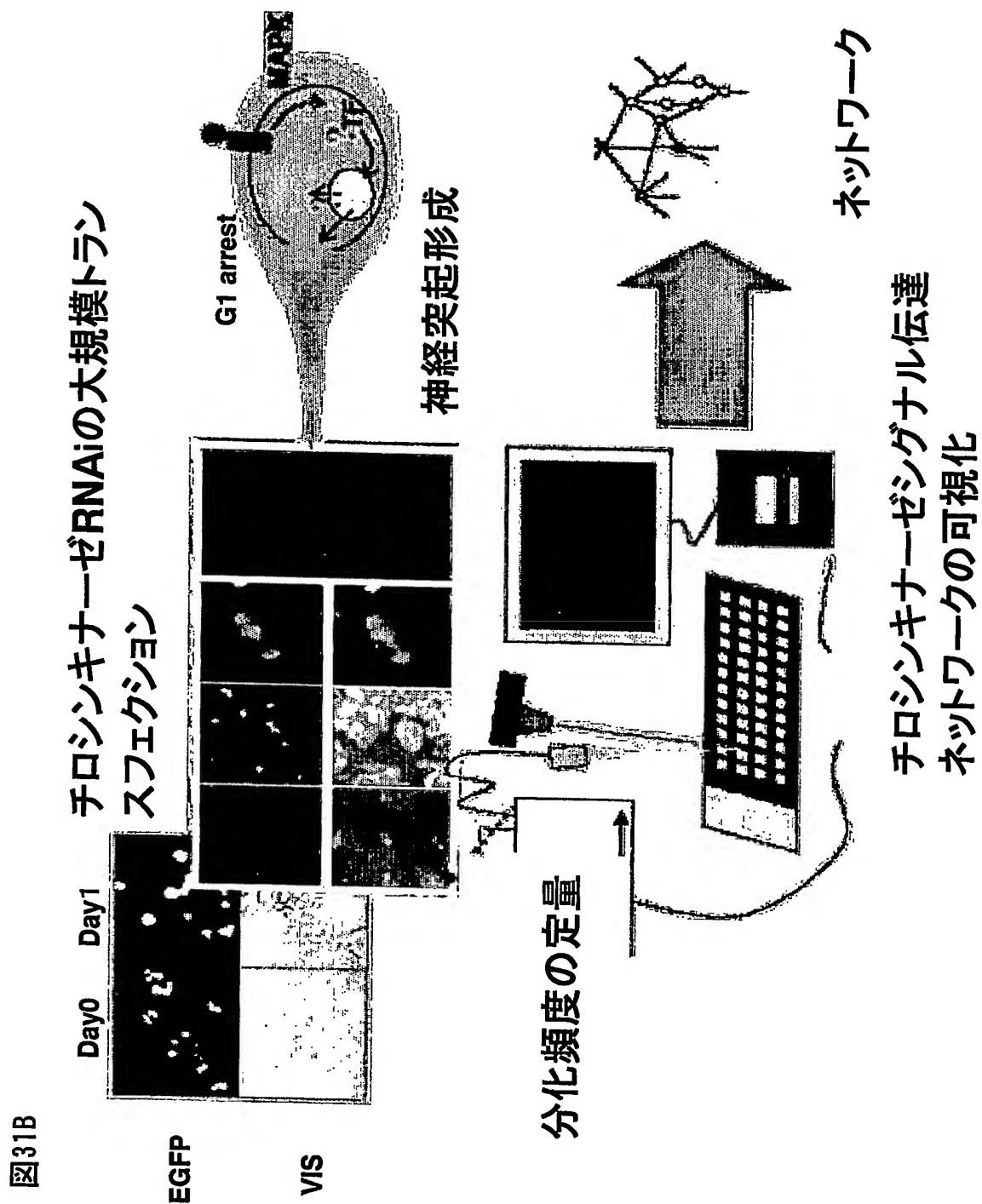


図30







RA NGF

	80-100%
	60-80%
	40-60%
	20-40%
	0-20%

図31C

TK	RA	NGF	TK	RA	NGF	TK	RA	NGF	TK	RA	NGF
ABL1		EPHB2				ITK			PTK6		
ABL2		EPHB3				JAK1			PTK7		
ACK1		EPHB4				JAK2			PTK9		
ALK		EPHB6				JAK3			PTK9L		
AXL		ERBB2				KDR			RET		
BLX		ERBB3				KIAA1079			ROR1		
BMX		ERBB4				KIT			ROR2		
BTX		FER				LOK			ROS1		
G20orf64		FES				LTK			RYK		
CSF1R		FGFR1				LYN			SRC		
GSK		FGFR2				MATK			SYK		
DDR1		FGFR3				MERTK			TEC		
DDR2		FGFR4				MET			TEK		
DKFZp761 P101		FGR				MST1R			TIE		
EGFR		FLT1				MUSK			TNK1		
EPHA1		FLT3				NTRK1			TXK		
EPHA2		FLT4				NTRK2			TYK2		
EPHA3		FRK				NTRK3			TYRO3		
EPHA4		FYN				PDGFRA			YES1		
EPHA7		HCK				PDGFRB			scramble		
EPHA8		IGF1R				PTK2			MafK		
EPHB1		INSR				PTK2B			mir-23		

(*チロシンキナーゼに対するBブリッジsiRNA)

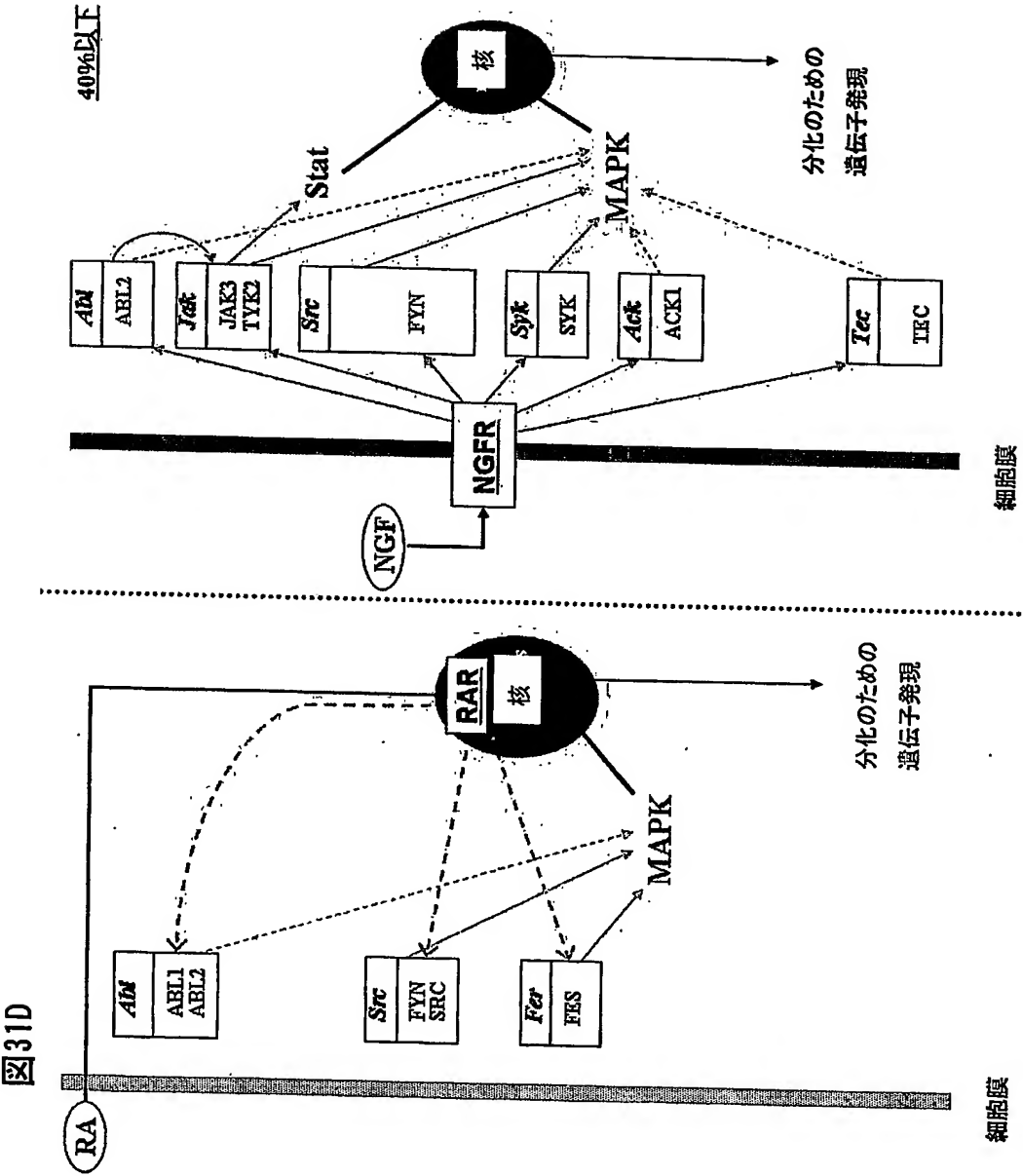
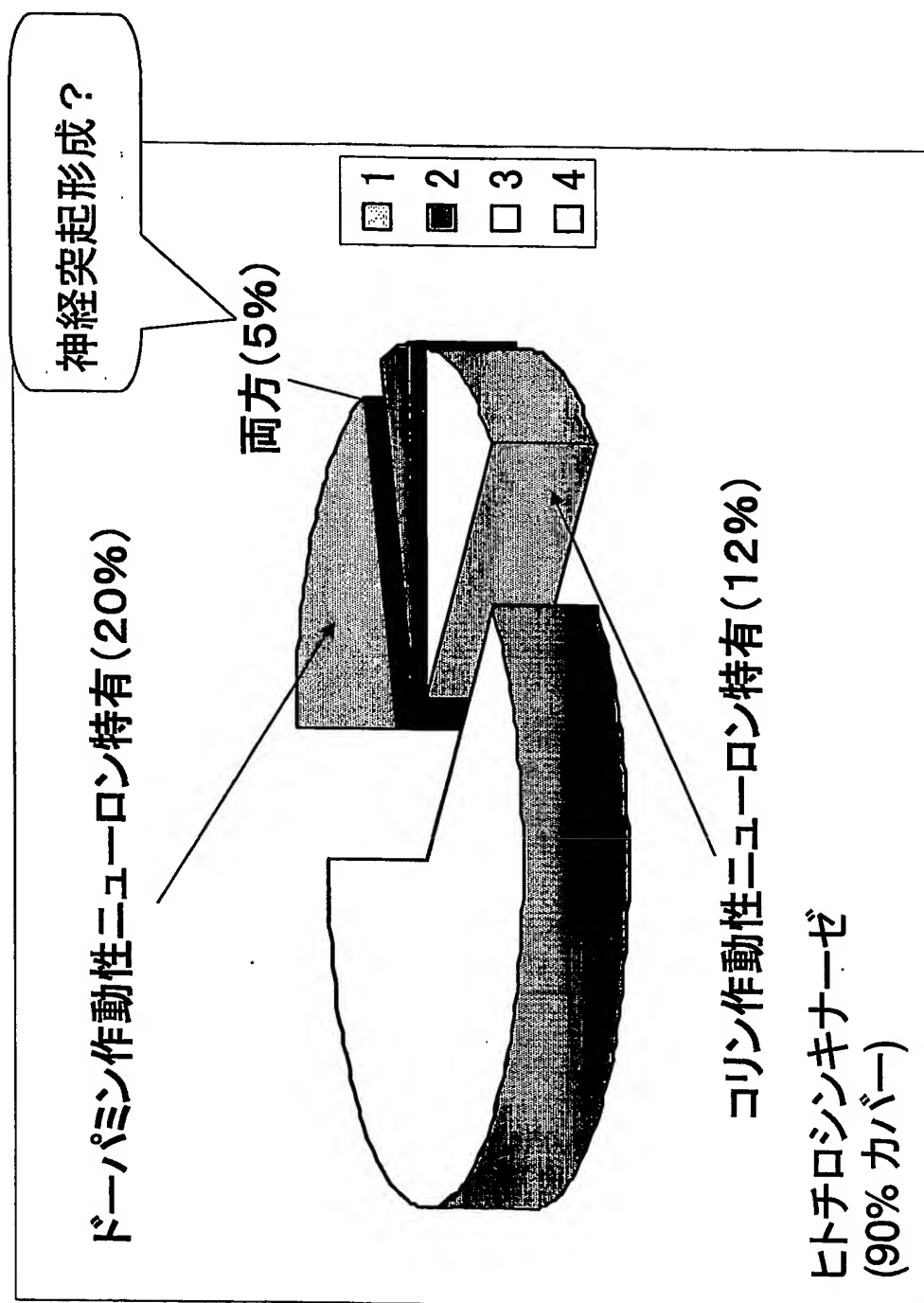


図31E



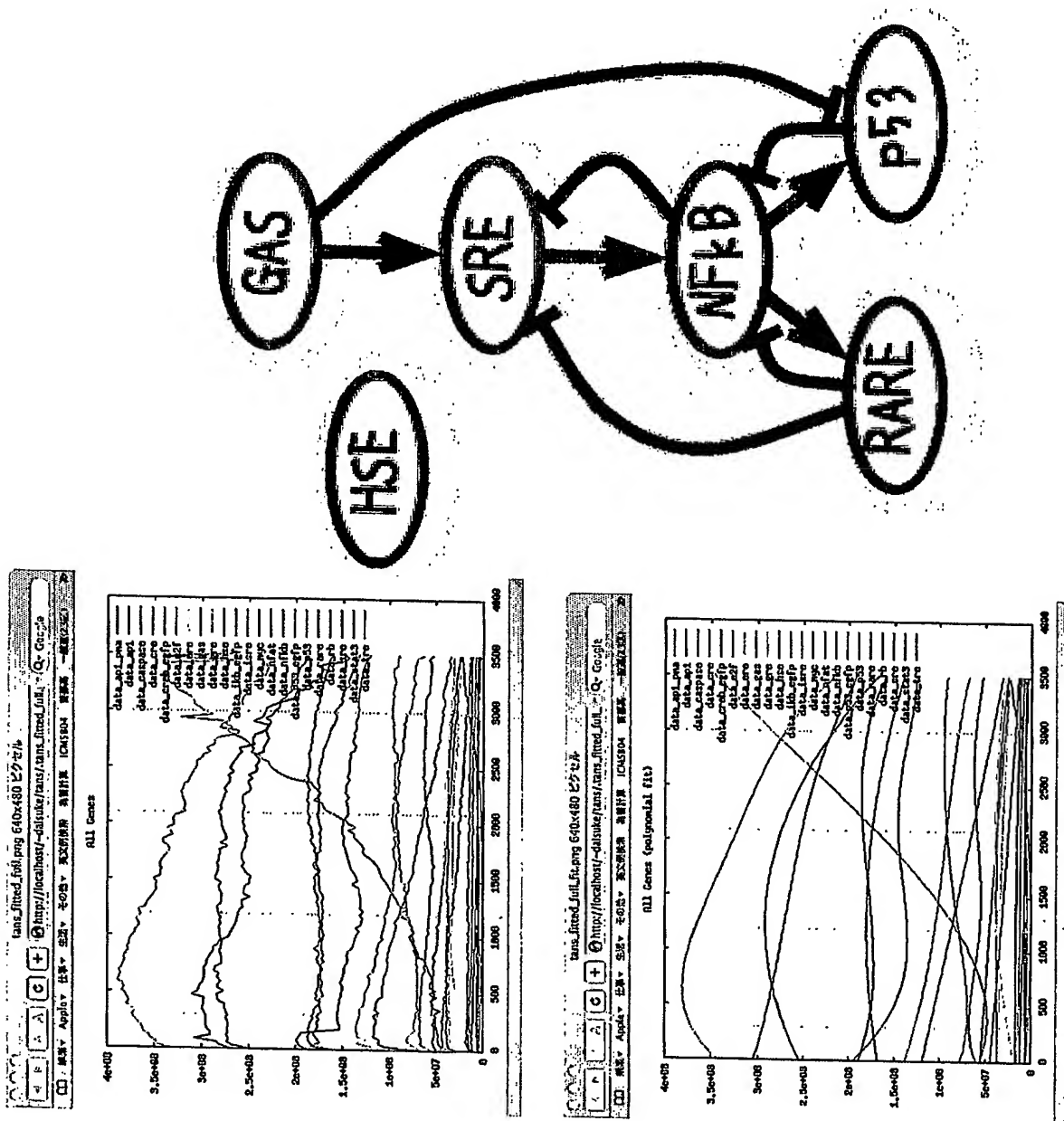


図31F

図 32

細胞プロファイルデータ生成のための装置システム図

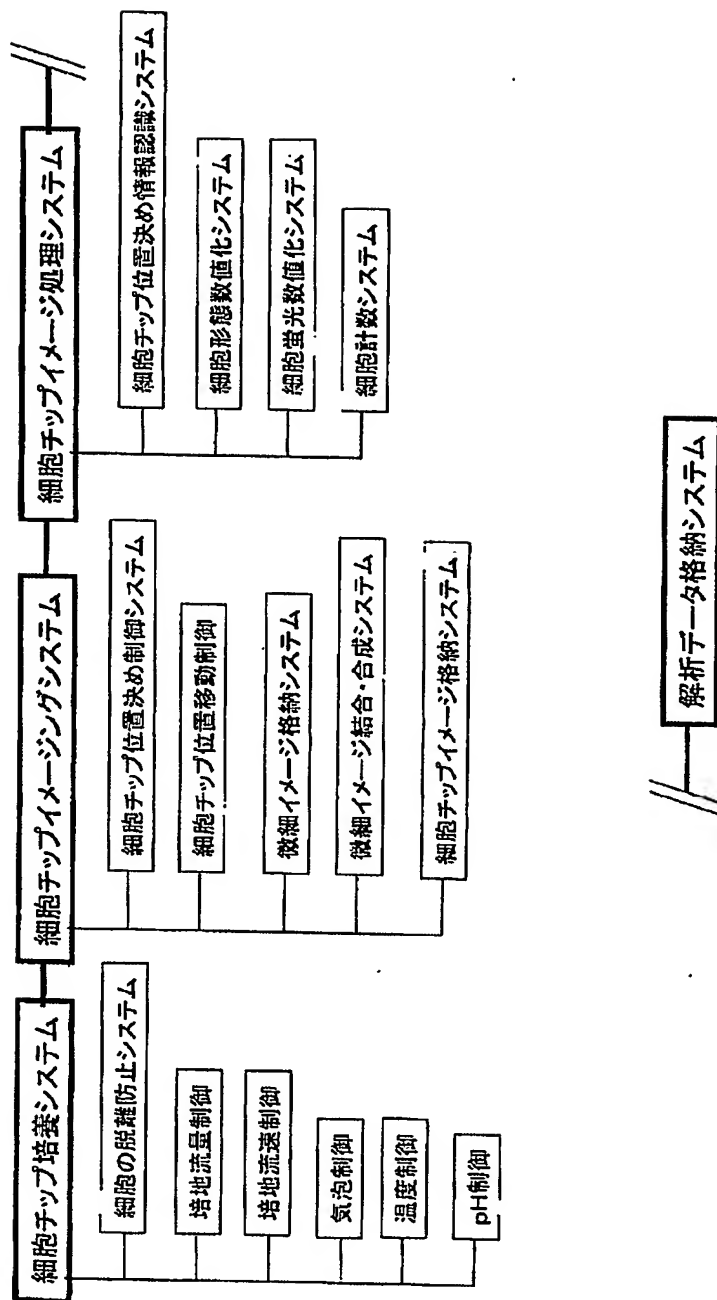


図33A

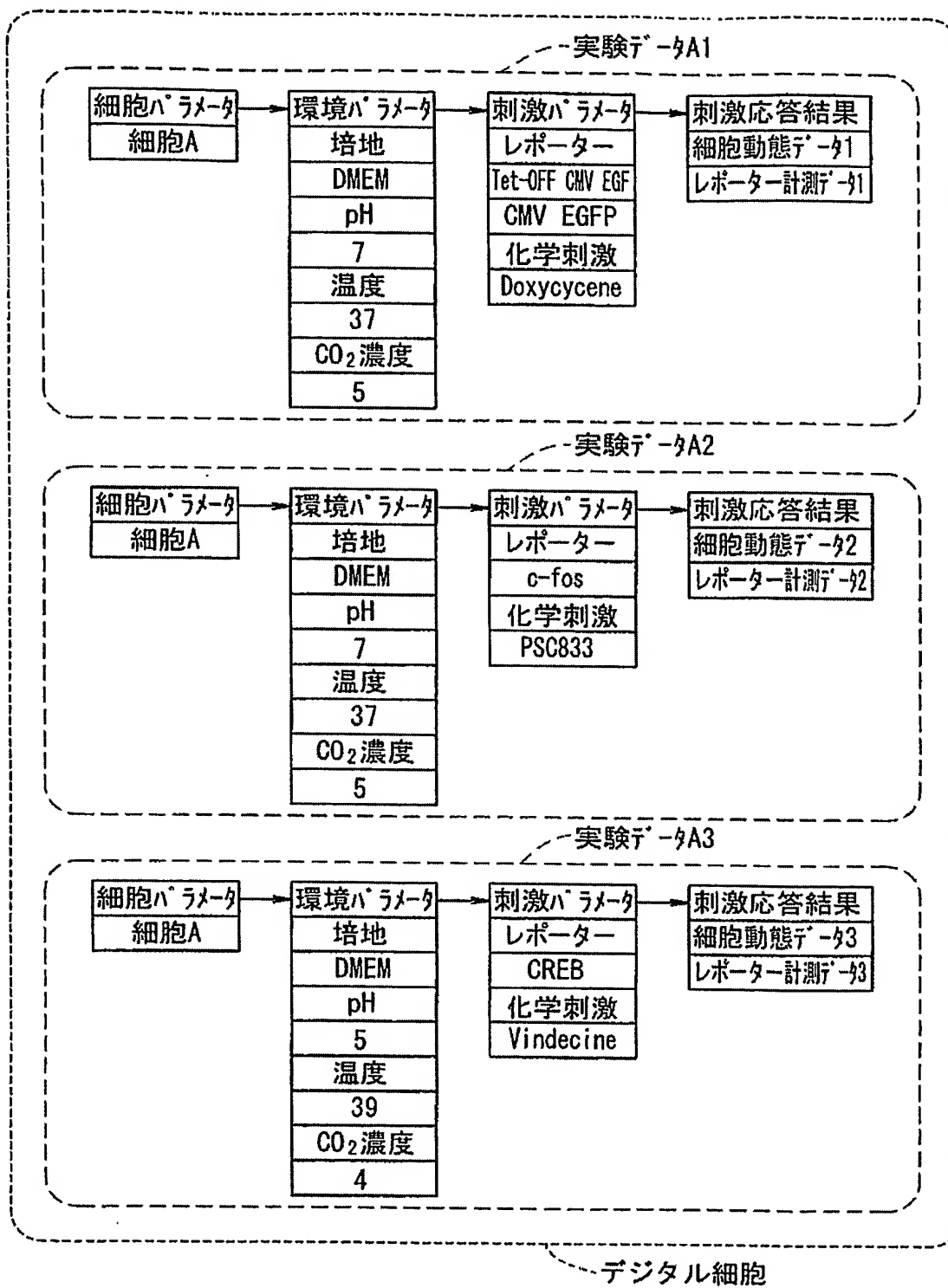


図33B

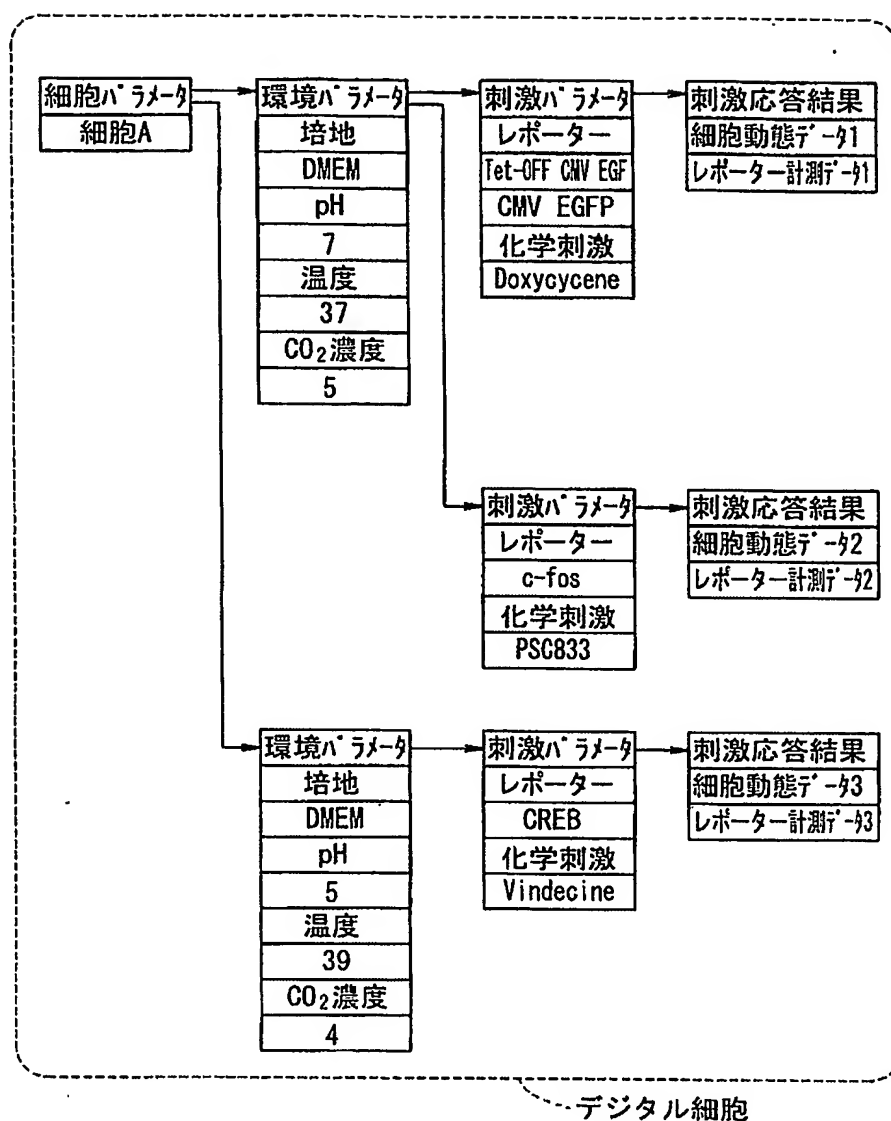


図34

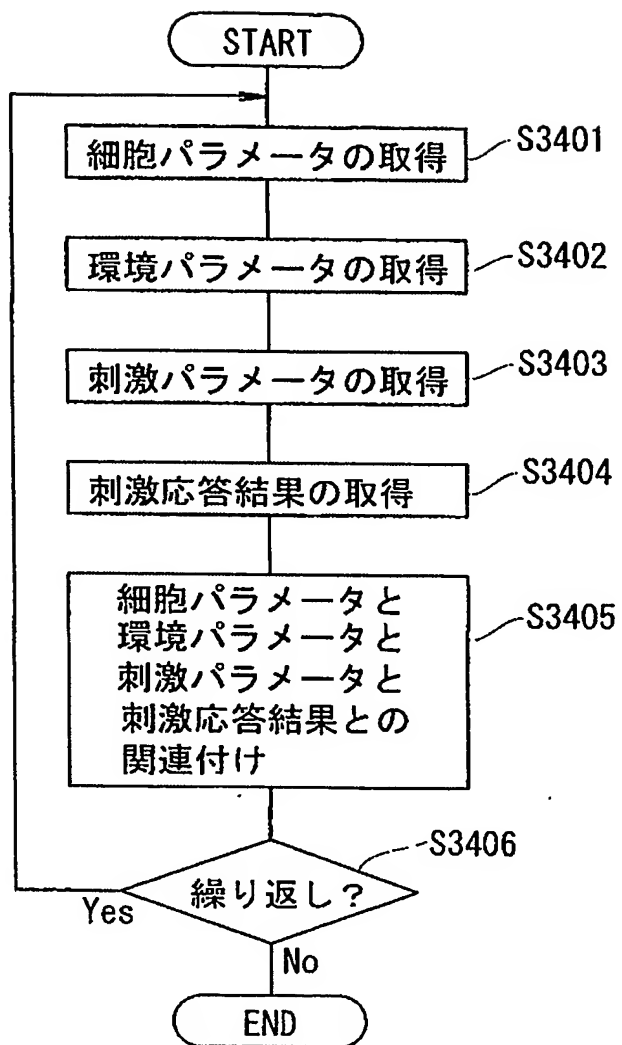


図35

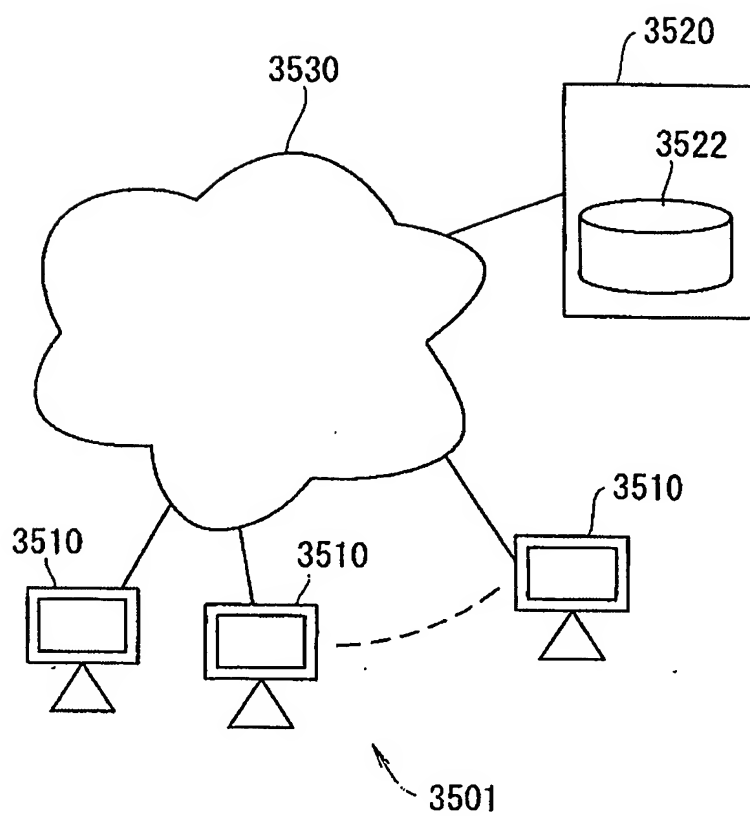


図36

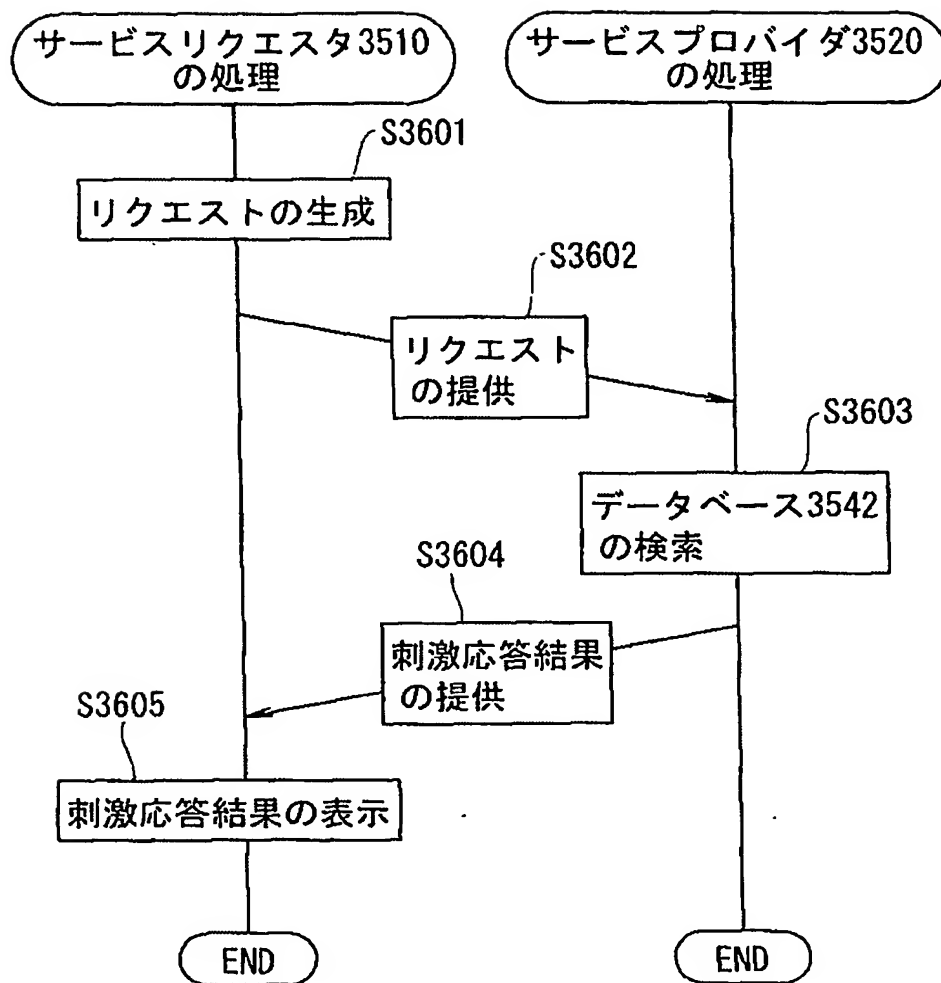
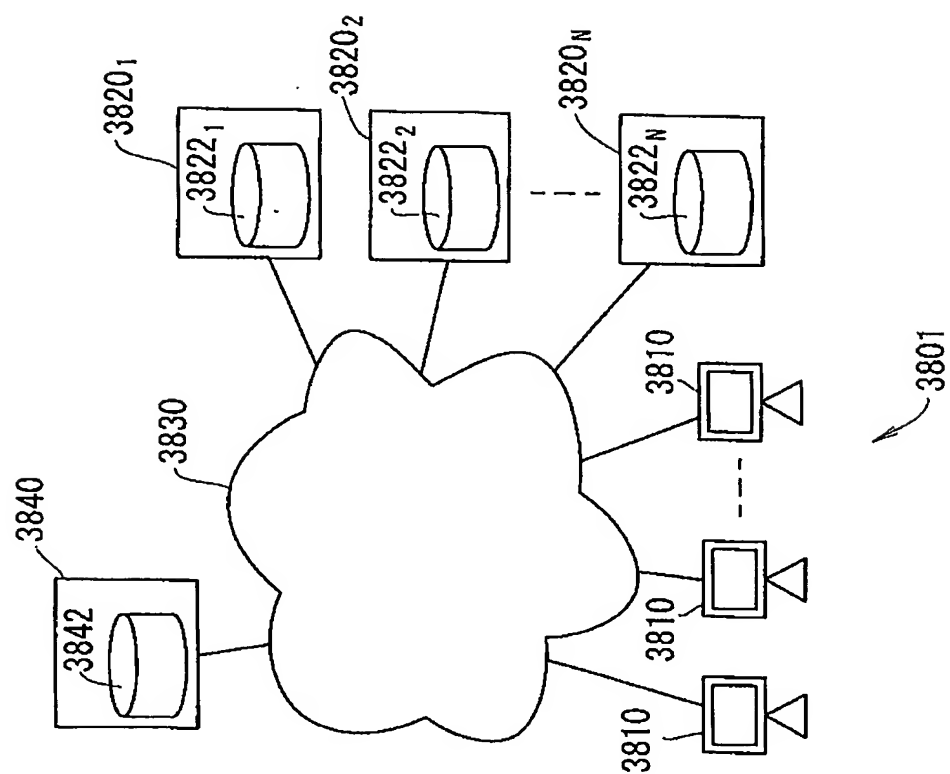
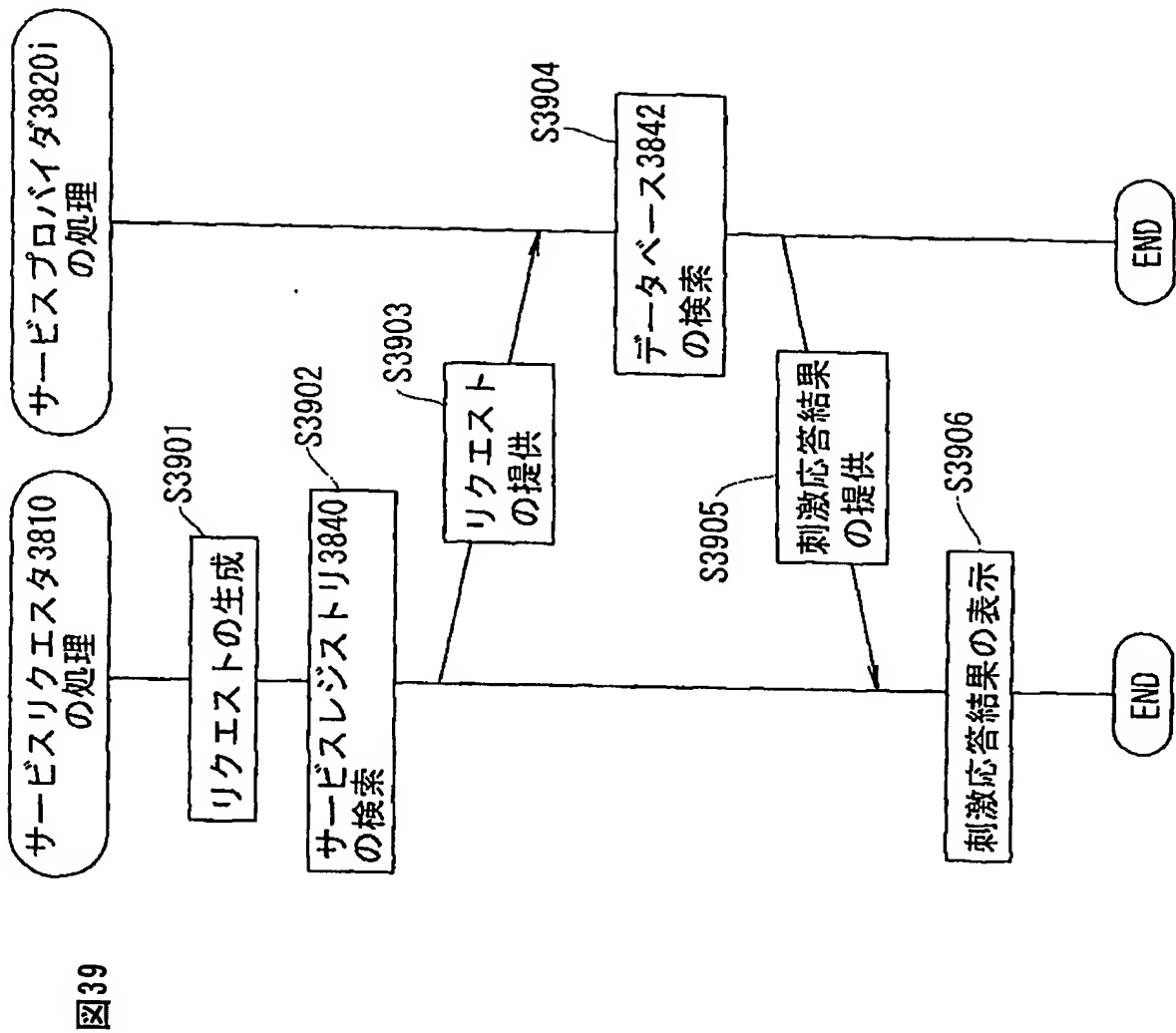


図37

パラメータ入力画面	
細胞パラメータ	
環境パラメータ	
刺激パラメータ	

図38





SEQUENCE LISTING

<110> National Institute of Advanced Industrial Science and Technology,
Masato MIYAKE, Tomoaki YOSHIKAWA, Jun MIYAKE

<120> Digital cell

<130> AI007PCT

<150> JP 2003-181915

<151> 2003-6-25

<150> JP 2003-289469

<151> 2003-8-7

<160> 48

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1929

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1929)

<223> fibronectin 1

<400> 1

atg ctt agg ggt ccg ggg ccc ggg ctg ctg ctg ctg gcc gtc cag tgc 48
Met Leu Arg Gly Pro Gly Pro Gly Leu Leu Leu Leu Ala Val Gln Cys
1 5 10 15

ctg ggg aca gcg gtg ccc tcc acg gga gcc tcg aag agc aag agg cag 96

Leu Gly Thr Ala Val Pro Ser Thr Gly Ala Ser Lys Ser Lys Arg Gln	
20 25 30	
gct cag caa atg gtt cag ccc cag tcc ccg gtg gct gtc agt caa agc	144
Ala Gln Gln Met Val Gln Pro Gln Ser Pro Val Ala Val Ser Gln Ser	
35 40 45	
aag ccc ggt tgt tat gac aat gga aaa cac tat cag ata aat caa cag	192
Lys Pro Gly Cys Tyr Asp Asn Gly Lys His Tyr Gln Ile Asn Gln Gln	
50 55 60	
tgg gag cgg acc tac cta ggc aat gcg ttg gtt tgt act tgt tat gga	240
Trp Glu Arg Thr Tyr Leu Gly Asn Ala Leu Val Cys Thr Cys Tyr Gly	
65 70 75 80	
gga agc cga ggt ttt aac tgc gag agt aaa cct gaa gct gaa gag act	288
Gly Ser Arg Gly Phe Asn Cys Glu Ser Lys Pro Glu Ala Glu Glu Thr	
85 90 95	
tgc ttt gac aag tac act ggg aac act tac cga gtg ggt gac act tat	336
Cys Phe Asp Lys Tyr Thr Gly Asn Thr Tyr Arg Val Gly Asp Thr Tyr	
100 105 110	
gag cgt cct aaa gac tcc atg atc tgg gac tgt acc tgc atc ggg gct	384
Glu Arg Pro Lys Asp Ser Met Ile Trp Asp Cys Thr Cys Ile Gly Ala	
115 120 125	
ggg cga ggg aga ata agc tgt acc atc gca aac cgc tgc cat gaa ggg	432
Gly Arg Gly Arg Ile Ser Cys Thr Ile Ala Asn Arg Cys His Glu Gly	
130 135 140	
ggt cag tcc tac aag att ggt gac acc tgg agg aga cca cat gag act	480
Gly Gln Ser Tyr Lys Ile Gly Asp Thr Trp Arg Arg Pro His Glu Thr	
145 150 155 160	
ggt ggt tac atg tta gag tgt gtg tgt ctt ggt aat gga aaa gga gaa	528

Gly Gly Tyr Met Leu Glu Cys Val Cys Leu Gly Asn Gly Lys Gly Glu	
165	170
175	
tgg acc tgc aag ccc ata gct gag aag tgt ttt gat cat gct gct ggg	576
Trp Thr Cys Lys Pro Ile Ala Glu Lys Cys Phe Asp His Ala Ala Gly	
180	185
190	
act tcc tat gtg gtc gga gaa acg tgg gag aag ccc tac caa ggc tgg	624
Thr Ser Tyr Val Val Gly Glu Thr Trp Glu Lys Pro Tyr Gln Gly Trp	
195	200
205	
atg atg gta gat tgt act tgc ctg gga gaa ggc agc gga cgc atc act	672
Met Met Val Asp Cys Thr Cys Leu Gly Glu Gly Ser Gly Arg Ile Thr	
210	215
220	
tgc act tct aga aat aga tgc aac gat cag gac aca agg aca tcc tat	720
Cys Thr Ser Arg Asn Arg Cys Asn Asp Gln Asp Thr Arg Thr Ser Tyr	
225	230
235	240
aga att gga gac acc tgg agc aag aag gat aat cga gga aac ctg ctc	768
Arg Ile Gly Asp Thr Trp Ser Lys Lys Asp Asn Arg Gly Asn Leu Leu	
245	250
255	
cag tgc atc tgc aca ggc aac ggc cga gga gag tgg aag tgt gag agg	816
Gln Cys Ile Cys Thr Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Lys Cys Glu Arg	
260	265
270	
cac acc tct gtg cag acc aca tcg agc gga tct ggc ccc ttc acc gat	864
His Thr Ser Val Gln Thr Thr Ser Ser Gly Ser Gly Pro Phe Thr Asp	
275	280
285	
gtt cgt gca gct gtt tac caa cag cag cct cac ccc cag cct cct ccc	912
Val Arg Ala Ala Val Tyr Gln Pro Gln Pro His Pro Gln Pro Pro Pro	
290	295
300	
tat ggc cac tgt gtc aca gac agt ggt gtg gtc tac tct gtg ggg atg	960

Tyr Gly His Cys Val Thr Asp Ser Gly Val Val Tyr Ser Val Gly Met	
305	310 315 320
cag tgg ctg aag aca caa gga aat aag caa atg ctt tgc acg tgc ctg	1008
Gln Trp Leu Lys Thr Gln Gly Asn Lys Gln Met Leu Cys Thr Cys Leu	
325	330 335
ggc aac gga gtc agc tgc caa gag aca gct gta acc cag act tac ggt	1056
Gly Asn Gly Val Ser Cys Gln Glu Thr Ala Val Thr Gln Thr Tyr Gly	
340	345 350
ggc aac tca aat gga gag cca tgt gtc tta cca ttc acc tac aat ggc	1104
Gly Asn Ser Asn Gly Glu Pro Cys Val Leu Pro Phe Thr Tyr Asn Gly	
355	360 365
agg acg gac agc aca act tcg aat tat gag cag gac cag aaa tac tct	1152
Arg Thr Asp Ser Thr Thr Ser Asn Tyr Glu Gln Asp Gln Lys Tyr Ser	
370	375 380
ttc tgc aca gac cac act gtt ttg gtt cag act cga gga gga aat tcc	1200
Phe Cys Thr Asp His Thr Val Leu Val Gln Thr Arg Gly Gly Asn Ser	
385	390 395 400
aat ggt gcc ttg tgc cac ttc ccc ttc cta tac aac aac cac aat tac	1248
Asn Gly Ala Leu Cys His Phe Pro Phe Leu Tyr Asn Asn His Asn Tyr	
405	410 415
act gat tgc act tct gag ggc aga aga gac aac atg aag tgg tgt ggg	1296
Thr Asp Cys Thr Ser Glu Gly Arg Arg Asp Asn Met Lys Trp Cys Gly	
420	425 430
acc aca cag aac tat gat gcc gac cag aag ttt ggg ttc tgc ccc atg	1344
Thr Thr Gln Asn Tyr Asp Ala Asp Gln Lys Phe Gly Phe Cys Pro Met	
435	440 445
gct gcc cac gag gaa atc tgc aca acc aat gaa ggg gtc atg tac cgc	1392

Ala Ala His Glu Glu Ile Cys Thr Thr Asn Glu Gly Val Met Tyr Arg	
450	460
att gga gat cag tgg gat aag cag cat gac atg ggt cac atg atg agg	1440
Ile Gly Asp Gln Trp Asp Lys Gln His Asp Met Gly His Met Met Arg	
465	480
tgc acg tgt gtt ggg aat ggt cgt ggg gaa tgg aca tgc att gcc tac	1488
Cys Thr Cys Val Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Thr Cys Ile Ala Tyr	
485	495
tgc cag ctt cga gat cag tgc att gtt gat gac atc act tac aat gtg	1536
Ser Gln Leu Arg Asp Gln Cys Ile Val Asp Asp Ile Thr Tyr Asn Val	
500	510
aac gac aca ttc cac aag cgt cat gaa gag ggg cac atg ctg aac tgt	1584
Asn Asp Thr Phe His Lys Arg His Glu Glu Gly His Met Leu Asn Cys	
515	525
aca tgc ttc ggt cag ggt cgg ggc agg tgg aag tgt gat ccc gtc gac	1632
Thr Cys Phe Gly Gln Gly Arg Gly Arg Trp Lys Cys Asp Pro Val Asp	
530	540
caa tgc cag gat tca gag act ggg acg ttt tat caa att gga gat tca	1680
Gln Cys Gln Asp Ser Glu Thr Gly Thr Phe Tyr Gln Ile Gly Asp Ser	
545	560
tgg gag aag tat gtg cat ggt gtc aga tac cag tgc tac tgc tat ggc	1728
Trp Glu Lys Tyr Val His Gly Val Arg Tyr Gln Cys Tyr Cys Tyr Gly	
565	575
cgt ggc att ggg gag tgg cat tgc caa cct tta cag acc tat cca agc	1776
Arg Gly Ile Gly Glu Trp His Cys Gln Pro Leu Gln Thr Tyr Pro Ser	
580	590
tca agt ggt cct gtc gaa gta ttt atc act gag act ccg agt cag ccc	1824

Ser Ser Gly Pro Val Glu Val Phe Ile Thr Glu Thr Pro Ser Gln Pro
 595 600 605

aac tcc cac ccc atc cag tgg aat gca cca cag cca tct cac att tcc 1872
 Asn Ser His Pro Ile Gln Trp Asn Ala Pro Gln Pro Ser His Ile Ser
 610 615 620

aag tac att ctc agg tgg aga cct gtg agt atc cca ccc aga aac ctt 1920
 Lys Tyr Ile Leu Arg Trp Arg Pro Val Ser Ile Pro Pro Arg Asn Leu
 625 630 635 640

gga tac tga

1929

Gly Tyr

<210> 2

<211> 642

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Leu Arg Gly Pro Gly Pro Gly Leu Leu Leu Leu Ala Val Gln Cys
 1 5 10 15

Leu Gly Thr Ala Val Pro Ser Thr Gly Ala Ser Lys Ser Lys Arg Gln
 20 25 30

Ala Gln Gln Met Val Gln Pro Gln Ser Pro Val Ala Val Ser Gln Ser
 35 40 45

Lys Pro Gly Cys Tyr Asp Asn Gly Lys His Tyr Gln Ile Asn Gln Gln
50 55 60

Trp Glu Arg Thr Tyr Leu Gly Asn Ala Leu Val Cys Thr Cys Tyr Gly
65 70 75 80

Gly Ser Arg Gly Phe Asn Cys Glu Ser Lys Pro Glu Ala Glu Glu Thr
85 90 95

Cys Phe Asp Lys Tyr Thr Gly Asn Thr Tyr Arg Val Gly Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Arg Pro Lys Asp Ser Met Ile Trp Asp Cys Thr Cys Ile Gly Ala
115 120 125

Gly Arg Gly Arg Ile Ser Cys Thr Ile Ala Asn Arg Cys His Glu Gly
130 135 140

Gly Gln Ser Tyr Lys Ile Gly Asp Thr Trp Arg Arg Pro His Glu Thr
145 150 155 160

Gly Gly Tyr Met Leu Glu Cys Val Cys Leu Gly Asn Gly Lys Gly Glu
165 170 175

Trp Thr Cys Lys Pro Ile Ala Glu Lys Cys Phe Asp His Ala Ala Gly
180 185 190

Thr Ser Tyr Val Val Gly Glu Thr Trp Glu Lys Pro Tyr Gln Gly Trp
195 200 205

Met Met Val Asp Cys Thr Cys Leu Gly Glu Gly Ser Gly Arg Ile Thr
210 215 220

Cys Thr Ser Arg Asn Arg Cys Asn Asp Gln Asp Thr Arg Thr Ser Tyr
225 230 235 240

Arg Ile Gly Asp Thr Trp Ser Lys Lys Asp Asn Arg Gly Asn Leu Leu
245 250 255

Gln Cys Ile Cys Thr Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Lys Cys Glu Arg
260 265 270

His Thr Ser Val Gln Thr Thr Ser Ser Gly Ser Gly Pro Phe Thr Asp
275 280 285

Val Arg Ala Ala Val Tyr Gln Pro Gln Pro His Pro Gln Pro Pro Pro
290 295 300

Tyr Gly His Cys Val Thr Asp Ser Gly Val Val Tyr Ser Val Gly Met
305 310 315 320

Gln Trp Leu Lys Thr Gln Gly Asn Lys Gln Met Leu Cys Thr Cys Leu
325 330 335

Gly Asn Gly Val Ser Cys Gln Glu Thr Ala Val Thr Gln Thr Tyr Gly
340 345 350

Gly Asn Ser Asn Gly Glu Pro Cys Val Leu Pro Phe Thr Tyr Asn Gly
355 360 365

Arg Thr Asp Ser Thr Thr Ser Asn Tyr Glu Gln Asp Gln Lys Tyr Ser
370 375 380

Phe Cys Thr Asp His Thr Val Leu Val Gln Thr Arg Gly Gly Asn Ser
385 390 395 400

Asn Gly Ala Leu Cys His Phe Pro Phe Leu Tyr Asn Asn His Asn Tyr
405 410 415

Thr Asp Cys Thr Ser Glu Gly Arg Arg Asp Asn Met Lys Trp Cys Gly
420 425 430

Thr Thr Gln Asn Tyr Asp Ala Asp Gln Lys Phe Gly Phe Cys Pro Met
435 440 445

Ala Ala His Glu Glu Ile Cys Thr Thr Asn Glu Gly Val Met Tyr Arg
450 455 460

Ile Gly Asp Gln Trp Asp Lys Gln His Asp Met Gly His Met Met Arg
465 470 475 480

Cys Thr Cys Val Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Thr Cys Ile Ala Tyr
485 490 495

Ser Gln Leu Arg Asp Gln Cys Ile Val Asp Asp Ile Thr Tyr Asn Val
500 505 510

Asn Asp Thr Phe His Lys Arg His Glu Glu Gly His Met Leu Asn Cys
515 520 525

Thr Cys Phe Gly Gln Gly Arg Gly Arg Trp Lys Cys Asp Pro Val Asp
530 535 540

Gln Cys Gln Asp Ser Glu Thr Gly Thr Phe Tyr Gln Ile Gly Asp Ser
545 550 555 560

Trp Glu Lys Tyr Val His Gly Val Arg Tyr Gln Cys Tyr Cys Tyr Gly
565 570 575

Arg Gly Ile Gly Glu Trp His Cys Gln Pro Leu Gln Thr Tyr Pro Ser
580 585 590

Ser Ser Gly Pro Val Glu Val Phe Ile Thr Glu Thr Pro Ser Gln Pro
595 600 605

Asn Ser His Pro Ile Gln Trp Asn Ala Pro Gln Pro Ser His Ile Ser
610 615 620

Lys Tyr Ile Leu Arg Trp Arg Pro Val Ser Ile Pro Pro Arg Asn Leu
 625 630 635 640

Gly Tyr

<210> 3
 <211> 1437
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1437)
 <223> vitronectin

<400> 3
 atg gca ccc ctg agg ccc ttt ttc ata cta gcc ctg gtg gca tgg gtt 48
 Met Ala Pro Leu Arg Pro Phe Phe Ile Leu Ala Leu Val Ala Trp Val
 1 5 10 15
 tct ctg gct gac caa gag tca tgc aag ggc cgc tgc act cag ggt ttc 96
 Ser Leu Ala Asp Gln Glu Ser Cys Lys Gly Arg Cys Thr Gln Gly Phe
 20 25 30
 atg gcc agc aag aag tgt cag tgt gac gag ctt tgc act tac tat cag 144
 Met Ala Ser Lys Lys Cys Gln Cys Asp Glu Leu Cys Thr Tyr Tyr Gln
 35 40 45
 agc tgc tgt gcc gac tac atg gag cag tgc aag ccc caa gta acg cgg 192
 Ser Cys Cys Ala Asp Tyr Met Glu Gln Cys Lys Pro Gln Val Thr Arg
 50 55 60

ggg gac gtg ttc act atg cca gag gat gat tat tgg agc tat gac tac	240
Gly Asp Val Phe Thr Met Pro Glu Asp Asp Tyr Trp Ser Tyr Asp Tyr	
65 70 75 80	
gtg gag gag ccc aag aac aat acc aac acc ggt gtg caa ccc gag aac	288
Val Glu Glu Pro Lys Asn Asn Thr Asn Thr Gly Val Gln Pro Glu Asn	
85 90 95	
acc tct cca ccc ggt gac cta aat cct cgg acg gac ggc act cta aag	336
Thr Ser Pro Pro Gly Asp Leu Asn Pro Arg Thr Asp Gly Thr Leu Lys	
100 105 110	
cgg aca gcc ttc cta gat cct gag gaa cag cca agc acc cca gcg cct	384
Pro Thr Ala Phe Leu Asp Pro Glu Glu Gln Pro Ser Thr Pro Ala Pro	
115 120 125	
aaa gtg gag caa cag gag gag atc cta agg ccc gac acc act gat caa	432
Lys Val Glu Gln Gln Glu Glu Ile Leu Arg Pro Asp Thr Thr Asp Gln	
130 135 140	
ggg acc cct gag ttt cca gag gaa gaa ctg tgc agt gga aag ccc ttt	480
Gly Thr Pro Glu Phe Pro Glu Glu Glu Leu Cys Ser Gly Lys Pro Phe	
145 150 155 160	
gac gcc ttc acg gat ctc aag aat ggg tcc ctc ttt gcc ttc cga ggg	528
Asp Ala Phe Thr Asp Leu Lys Asn Gly Ser Leu Phe Ala Phe Arg Gly	
. 165 170 175	
cag tac cgc tgt gag cta gat gag acg gca gtg agg cct ggg tac ccc	576
Gln Tyr Arg Cys Glu Leu Asp Glu Thr Ala Val Arg Pro Gly Tyr Pro	
180 185 190	
aaa ctt atc caa gat gtc tgg ggc att gag ggc ccc atc gat gct gcc	624
Lys Leu Ile Gln Asp Val Trp Gly Ile Glu Gly Pro Ile Asp Ala Ala	
195 200 205	

ttc act cgc atc aac tgt cag ggg aag acc tac ttg ttc aag ggt agt	672
Phe Thr Arg Ile Asn Cys Gln Gly Lys Thr Tyr Leu Phe Lys Gly Ser	
210 215 220	
cag tac tgg cgc ttt gag gat ggg gtc ctg gac cct ggt tat ccc cga	720
Gln Tyr Trp Arg Phe Glu Asp Gly Val Leu Asp Pro Gly Tyr Pro Arg	
225 230 235 240	
aac atc tcc gaa ggc ttc agt ggc ata cca gac aat gtt gat gca gcg	768
Asn Ile Ser Glu Gly Phe Ser Gly Ile Pro Asp Asn Val Asp Ala Ala	
245 250 255	
ttc gcc ctt cct gcc cac cgt tac agt ggc cgg gaa agg gtc tac ttc	816
Phe Ala Leu Pro Ala His Arg Tyr Ser Gly Arg Glu Arg Val Tyr Phe	
260 265 270	
ttc aag ggg aag cag tac tgg gag cac gaa ttt cag cag caa ccc agc	864
Phe Lys Gly Lys Gln Tyr Trp Glu His Glu Phe Gln Gln Gln Pro Ser	
275 280 285	
cag gag gag tgc gaa ggc agc tct ctg tca gcc gtg ttt gag cac ttt	912
Gln Glu Glu Cys Glu Gly Ser Ser Leu Ser Ala Val Phe Glu His Phe	
290 295 300	
gcc ttg ctt cag cgg gac agc tgg gag aac att ttc gaa ctc ctc ttc	960
Ala Leu Leu Gln Arg Asp Ser Trp Glu Asn Ile Phe Glu Leu Leu Phe	
305 310 315 320	
tgg ggc aga tcc tct gat gga gcc aga gaa ccc caa ttc atc agc cgg	1008
Trp Gly Arg Ser Ser Asp Gly Ala Arg Glu Pro Gln Phe Ile Ser Arg	
325 330 335	
aac tgg cat ggt gtg cca ggg aaa gtg gac gct gct atg gcc ggc cgc	1056
Asn Trp His Gly Val Pro Gly Lys Val Asp Ala Ala Met Ala Gly Arg	
340 345 350	

atc tac gtc act ggc tcc tta tcc cac tct gcc caa gcc aaa aaa cag Ile Tyr Val Thr Gly Ser Leu Ser His Ser Ala Gln Ala Lys Lys Gln 355 360 365	1104
ccg tct aag cgt aga agc cga aag cgc tat cgt tca cgc cga ggg cgt Pro Ser Lys Arg Arg Ser Arg Lys Arg Tyr Arg Ser Arg Arg Gly Arg 370 375 380	1152
ggc cac aga cgc agc cag agc tcg aac tcc cgt cgt tca tca cgt tca Gly His Arg Arg Ser Gln Ser Ser Asn Ser Arg Arg Ser Ser Arg Ser 385 390 395 400	1200
atc tgg ttc tct ttg ttc tcc agc gag gag agt ggg cta gga acc tac Ile Trp Phe Ser Leu Phe Ser Ser Glu Glu Ser Gly Leu Gly Thr Tyr 405 410 415	1248
aac aac tat gat tat gat atg gac tgg ctt gta cct gcc acc tgc gag Asn Asn Tyr Asp Tyr Asp Met Asp Trp Leu Val Pro Ala Thr Cys Glu 420 425 430	1296
ccc att cag agc gtc tat ttc ttc tct gga gac aaa tac tac cga gtc Pro Ile Gln Ser Val Tyr Phe Phe Ser Gly Asp Lys Tyr Tyr Arg Val 435 440 445	1344
aac ctt aga acc cgg cga gtg gac tct gtg aat cct ccc tac cca cgc Asn Leu Arg Thr Arg Arg Val Asp Ser Val Asn Pro Pro Tyr Pro Arg 450 455 460	1392
tcc att gct cag tat tgg ctg ggc tgc ccg acc tct gag aag tag Ser Ile Ala Gln Tyr Trp Leu Gly Cys Pro Thr Ser Glu Lys 465 470 475	1437

<210> 4

<211> 478

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 4

Met Ala Pro Leu Arg Pro Phe Phe Ile Leu Ala Leu Val Ala Trp Val
 1 5 10 15

Ser Leu Ala Asp Gln Glu Ser Cys Lys Gly Arg Cys Thr Gln Gly Phe
 20 25 30

Met Ala Ser Lys Lys Cys Gln Cys Asp Glu Leu Cys Thr Tyr Tyr Gln
 35 40 45

Ser Cys Cys Ala Asp Tyr Met Glu Gln Cys Lys Pro Gln Val Thr Arg
 50 55 60

Gly Asp Val Phe Thr Met Pro Glu Asp Asp Tyr Trp Ser Tyr Asp Tyr
 65 70 75 80

Val Glu Glu Pro Lys Asn Asn Thr Asn Thr Gly Val Gln Pro Glu Asn
 85 90 95

Thr Ser Pro Pro Gly Asp Leu Asn Pro Arg Thr Asp Gly Thr Leu Lys
 100 105 110

Pro Thr Ala Phe Leu Asp Pro Glu Glu Gln Pro Ser Thr Pro Ala Pro
 115 120 125

Lys Val Glu Gln Gln Glu Glu Ile Leu Arg Pro Asp Thr Thr Asp Gln
130 135 140

Gly Thr Pro Glu Phe Pro Glu Glu Glu Leu Cys Ser Gly Lys Pro Phe
145 150 155 160

Asp Ala Phe Thr Asp Leu Lys Asn Gly Ser Leu Phe Ala Phe Arg Gly
165 170 175

Gln Tyr Arg Cys Glu Leu Asp Glu Thr Ala Val Arg Pro Gly Tyr Pro
180 185 190

Lys Leu Ile Gln Asp Val Trp Gly Ile Glu Gly Pro Ile Asp Ala Ala
195 200 205

Phe Thr Arg Ile Asn Cys Gln Gly Lys Thr Tyr Leu Phe Lys Gly Ser
210 215 220

Gln Tyr Trp Arg Phe Glu Asp Gly Val Leu Asp Pro Gly Tyr Pro Arg
225 230 235 240

Asn Ile Ser Glu Gly Phe Ser Gly Ile Pro Asp Asn Val Asp Ala Ala
245 250 255

Phe Ala Leu Pro Ala His Arg Tyr Ser Gly Arg Glu Arg Val Tyr Phe
260 265 270

Phe Lys Gly Lys Gln Tyr Trp Glu His Glu Phe Gln Gln Gln Pro Ser
275 280 285

Gln Glu Glu Cys Glu Gly Ser Ser Leu Ser Ala Val Phe Glu His Phe
290 295 300

Ala Leu Leu Gln Arg Asp Ser Trp Glu Asn Ile Phe Glu Leu Leu Phe
305 310 315 320

Trp Gly Arg Ser Ser Asp Gly Ala Arg Glu Pro Gln Phe Ile Ser Arg
325 330 335

Asn Trp His Gly Val Pro Gly Lys Val Asp Ala Ala Met Ala Gly Arg
340 345 350

Ile Tyr Val Thr Gly Ser Leu Ser His Ser Ala Gln Ala Lys Lys Gln
355 360 365

Pro Ser Lys Arg Arg Ser Arg Lys Arg Tyr Arg Ser Arg Arg Gly Arg
370 375 380

Gly His Arg Arg Ser Gln Ser Ser Asn Ser Arg Arg Ser Ser Arg Ser
385 390 395 400

Ile Trp Phe Ser Leu Phe Ser Ser Glu Glu Ser Gly Leu Gly Thr Tyr
405 410 415

Asn Asn Tyr Asp Tyr Asp Met Asp Trp Leu Val Pro Ala Thr Cys Glu
 420 425 430

Pro Ile Gln Ser Val Tyr Phe Phe Ser Gly Asp Lys Tyr Tyr Arg Val
 435 440 445

Asn Leu Arg Thr Arg Arg Val Asp Ser Val Asn Pro Pro Tyr Pro Arg
 450 455 460

Ser Ile Ala Gln Tyr Trp Leu Gly Cys Pro Thr Ser Glu Lys
 465 470 475

<210> 5

<211> 9511

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (121)..(9372)

<223> laminin-2 alpha chain

<400> 5

ggcagcagct gcaactccgt gggctccggg aggagtggat ctgctccggc caggatgcct 60

ggggccaccg cggggtacct cttgtcctg ctcttgggga cgctcgaagg ctcccagact 120

cag cgg cga cag tcc caa gcg cat caa cag aga ggt tta ttt cct gct 168

Val Thr Asp Thr Glu Cys Leu Thr Leu Tyr Asn Ile Tyr Pro Arg Thr	
145	150 155 160
gga cca cca tcc tac gcc aaa gat gat gag gtc atc tgc act tca ttt	648
Gly Pro Pro Ser Tyr Ala Lys Asp Asp Glu Val Ile Cys Thr Ser Phe	
165	170 175
tat tcg aag atc cac cct tta gaa aat gga gag att cac att tct ttg	696
Tyr Ser Lys Ile His Pro Leu Glu Asn Gly Glu Ile His Ile Ser Leu	
180	185 190
atc aat ggg aga cca agt gct gat gac ccc tcc cct gaa ctc ctg gaa	744
Ile Asn Gly Arg Pro Ser Ala Asp Asp Pro Ser Pro Glu Leu Leu Glu	
195	200 205
ttc acc tct gct cgc tac att cgc ctg aga ttt cag agg atc cgc acc	792
Phe Thr Ser Ala Arg Tyr Ile Arg Leu Arg Phe Gln Arg Ile Arg Thr	
210	215 220
ttg aat gca gac ttg atg atg ttt gct cac aaa gac ccc aga gaa atc	840
Leu Asn Ala Asp Leu Met Met Phe Ala His Lys Asp Pro Arg Glu Ile	
225	230 235 240
gat ccc att gtc aca cga aga tat tac tat tct gtc aag gat att tca	888
Asp Pro Ile Val Thr Arg Arg Tyr Tyr Tyr Ser Val Lys Asp Ile Ser	
245	250 255
gtt ggc ggg atg tgc atc tgt tat ggt cat gcc cgg gct tgt cca ctt	936
Val Gly Gly Met Cys Ile Cys Tyr Gly His Ala Arg Ala Cys Pro Leu	
260	265 270
gac cct gca aca aat aaa tca cgc tgt gag tgt gaa cat aac acc tgt	984
Asp Pro Ala Thr Asn Lys Ser Arg Cys Glu Cys Glu His Asn Thr Cys	
275	280 285
ggg gaa agc tgt gac agg tgc tgt cca gga ttc cat cag aag cct tgg	1032

Gly Glu Ser Cys Asp Arg Cys Cys Pro Gly Phe His Gln Lys Pro Trp	
290	295
	300
aga gct gga acc ttc ctc acc aag tot gag tgt gaa gca tgc aat tgt	1080
Arg Ala Gly Thr Phe Leu Thr Lys Ser Glu Cys Glu Ala Cys Asn Cys	
305	310
	315
	320
cac gga aaa gct gag gaa tgc tat tat gat gaa act gtt gct agc aga	1128
His Gly Lys Ala Glu Glu Cys Tyr Tyr Asp Glu Thr Val Ala Ser Arg	
	325
	330
	335
aat cta agt tta aat ata cat ggg aag tac atc gga ggg ggt gtg tgc	1176
Asn Leu Ser Leu Asn Ile His Gly Lys Tyr Ile Gly Gly Gly Val Cys	
	340
	345
	350
atc aac tgc aca cat aac acg gct ggg ata aat tgt gag aca tgt gtt	1224
Ile Asn Cys Thr His Asn Thr Ala Gly Ile Asn Cys Glu Thr Cys Val	
	355
	360
	365
gat gga ttc ttc aga ccc aaa ggg gtg tca cca aat tat cca aga cca	1272
Asp Gly Phe Phe Arg Pro Lys Gly Val Ser Pro Asn Tyr Pro Arg Pro	
	370
	375
	380
tgc cag cca tgt cac tgt gat cca act ggc tcc ctt agt gaa gtc tgt	1320
Cys Gln Pro Cys His Cys Asp Pro Thr Gly Ser Leu Ser Glu Val Cys	
	385
	390
	395
	400
gtc aaa gat gag aaa tac gcc cag cga ggg ttg aaa cct gga tcc tgt	1368
Val Lys Asp Glu Lys Tyr Ala Gln Arg Gly Leu Lys Pro Gly Ser Cys	
	405
	410
	415
cac tgc aaa act ggc ttt gga ggc gtg aac tgt gat cgc tgt gtc agg	1416
His Cys Lys Thr Gly Phe Gly Gly Val Asn Cys Asp Arg Cys Val Arg	
	420
	425
	430
ggt tac cat ggt tac cca gac tgc caa ccc tgt aac tgt agt ggc ttg	1464

Gly Tyr His Gly Tyr Pro Asp Cys Gln Pro Cys Asn Cys Ser Gly Leu	
435	440 445
ggg agc aca aat gag gac cct tgc gtt ggg ccc tgt agc tgt aag gag	1512
Gly Ser Thr Asn Glu Asp Pro Cys Val Gly Pro Cys Ser Cys Lys Glu	
450	455 460
aat gtt gaa ggt gaa gac tgt agt cgt tgc aaa tct ggt ttc ttc aac	1560
Asn Val Glu Gly Glu Asp Cys Ser Arg Cys Lys Ser Gly Phe Phe Asn	
465	470 475 480
ttg caa gaa gat aat cag aaa ggc tgt gag gag tgt ttc tgt tca gga	1608
Leu Gln Glu Asp Asn Gln Lys Gly Cys Glu Glu Cys Phe Cys Ser Gly	
	485 490 495
gta tca aac aga tgt cag agt tcc tac tgg acc tat ggg aat att caa	1656
Val Ser Asn Arg Cys Gln Ser Ser Tyr Trp Thr Tyr Gly Asn Ile Gln	
	500 505 510
gac atg cgt ggt tgg tat ctc aca gac ctc tct ggc cgc att cgg atg	1704
Asp Met Arg Gly Trp Tyr Leu Thr Asp Leu Ser Gly Arg Ile Arg Met	
	515 520 525
gct ccc cag ctt gat aac cct gac tca cct cag cag atc agc atc agt	1752
Ala Pro Gln Leu Asp Asn Pro Asp Ser Pro Gln Gln Ile Ser Ile Ser	
	530 535 540
aac tct gag gcc cgg aaa tcc ctg ctt gat ggt tac tac tgg agt gca	1800
Asn Ser Glu Ala Arg Lys Ser Leu Leu Asp Gly Tyr Tyr Trp Ser Ala	
	545 550 555 560
ccg cct cca tat ctg gga aac aga ctt cca gct gtt ggg gga cag ttg	1848
Pro Pro Pro Tyr Leu Gly Asn Arg Leu Pro Ala Val Gly Gly Gln Leu	
	565 570 575
tca ttt acc atc tca tat gac ctc gaa gaa gag gaa gac gat aca gaa	1896

Ser Phe Thr Ile Ser Tyr Asp Leu Glu Glu Glu Glu Asp Asp Thr Glu	
580	585
	590
aaa ctc ctt cag ctg atg att atc ttt gag gga aat gac tta aga atc	1944
Lys Leu Leu Gln Leu Met Ile Ile Phe Glu Gly Asn Asp Leu Arg Ile	
595	600
	605
agc aca gog tat aag gag gtg tac tta gag cca tct gaa gaa cac gtt	1992
Ser Thr Ala Tyr Lys Glu Val Tyr Leu Glu Pro Ser Glu Glu His Val	
610	615
	620
gag gag gtg tca ctc aaa gaa gag gcc ttt act ata cat gga aca aat	2040
Glu Glu Val Ser Leu Lys Glu Glu Ala Phe Thr Ile His Gly Thr Asn	
625	630
	635
	640
ttg cca gtc act aga aaa gat ttc atg att gtt ctc aca aat ttg gga	2088
Leu Pro Val Thr Arg Lys Asp Phe Met Ile Val Leu Thr Asn Leu Gly	
645	650
	655
gag atc ctt atc caa atc aca tac aac tta ggg atg gac gcc atc ttc	2136
Glu Ile Leu Ile Gln Ile Thr Tyr Asn Leu Gly Met Asp Ala Ile Phe	
660	665
	670
agg ctg agt tct gtc aat ctt gaa tct cct gtc cct tat cct act gat	2184
Arg Leu Ser Ser Val Asn Leu Glu Ser Pro Val Pro Tyr Pro Thr Asp	
675	680
	685
aga cgt att gca act gat gtg gaa gtt tgc cag tgt cca cct ggg tac	2232
Arg Arg Ile Ala Thr Asp Val Glu Val Cys Gln Cys Pro Pro Gly Tyr	
690	695
	700
agt ggc agc tct tgt gaa aca tgt tgg cct agg cac cga aga gtt aac	2280
Ser Gly Ser Ser Cys Glu Thr Cys Trp Pro Arg His Arg Arg Val Asn	
705	710
	715
	720
ggc acc att ttt ggt ggc att tgt gaa cca tgt cag tgc ttt gct cat	2328

Gly Thr Ile Phe Gly Gly Ile Cys Glu Pro Cys Gln Cys Phe Ala His	
725	730 735
gca gaa gcc tgt gat gac atc aca gga gaa tgt ctg aac tgt aag gat	2376
Ala Glu Ala Cys Asp Asp Ile Thr Gly Glu Cys Leu Asn Cys Lys Asp	
740	745 750
cac aca ggt ggg ccg tac tgc aat gaa tgt ctc cct gga ttc tat ggt	2424
His Thr Gly Gly Pro Tyr Cys Asn Glu Cys Leu Pro Gly Phe Tyr Gly	
755	760 765
gat cct act cga gga agc cct gaa gac tgt cag ccc tgt gcc tgt cca	2472
Asp Pro Thr Arg Gly Ser Pro Glu Asp Cys Gln Pro Cys Ala Cys Pro	
770	775 780
ctc aat atc cca tca aat aac ttt agt cca aca tgc cat tta gac cgg	2520
Leu Asn Ile Pro Ser Asn Asn Phe Ser Pro Thr Cys His Leu Asp Arg	
785	790 795 800
agt ctg gga ttg atc tgt gac gag tgt cct att ggg tac aca gga ccg	2568
Ser Leu Gly Leu Ile Cys Asp Glu Cys Pro Ile Gly Tyr Thr Gly Pro	
805	810 815
cgc tgt gag agg tgt gca gaa ggc tat ttt gga caa cct tcc gta cct	2616
Arg Cys Glu Arg Cys Ala Glu Gly Tyr Phe Gly Gln Pro Ser Val Pro	
820	825 830
gga gga tca tgt cag cca tgc caa tgc aat gac aac ctt gac tac tcc	2664
Gly Gly Ser Cys Gln Pro Cys Gln Cys Asn Asp Asn Leu Asp Tyr Ser	
835	840 845
atc cct ggc agc tgt gac agc ctg tct ggc tcc tgt ctg att tgt aag	2712
Ile Pro Gly Ser Cys Asp Ser Leu Ser Gly Ser Cys Leu Ile Cys Lys	
850	855 860
cca ggt aca aca ggc cgg tac tgt gag ctc tgt gct gat ggg tat ttt	2760

Pro Gly Thr Thr Gly Arg Tyr Cys Glu Leu Cys Ala Asp Gly Tyr Phe	
865	870 875 880
gga gac gcg gtt aat aca aag aac tgt caa cca tgc cgt tgt gat atc	2808
Gly Asp Ala Val Asn Thr Lys Asn Cys Gln Pro Cys Arg Cys Asp Ile	
885	890 895
aat ggc tcc ttc tca gag gat tgt cac aca aga act ggg caa tgt gag	2856
Asn Gly Ser Phe Ser Glu Asp Cys His Thr Arg Thr Gly Gln Cys Glu	
900	905 910
tgc aga ccc aat gtt cag ggg cgg cac tgt gac gag tgt aag cct gaa	2904
Cys Arg Pro Asn Val Gln Gly Arg His Cys Asp Glu Cys Lys Pro Glu	
915	920 925
acc ttt ggc ctg caa ctg gga agg ggt tgt ctg ccc tgc aac tgc aat	2952
Thr Phe Gly Leu Gln Leu Gly Arg Gly Cys Leu Pro Cys Asn Cys Asn	
930	935 940
tct ttt ggg tct aag tcc ttt gac tgt gaa gca agt ggg cag tgc tgg	3000
Ser Phe Gly Ser Lys Ser Phe Asp Cys Glu Ala Ser Gly Gln Cys Trp	
945	950 955 960
tgc cag cct gga gta gca ggg aag aaa tgt gac cgt tgt gcc cat ggc	3048
Cys Gln Pro Gly Val Ala Gly Lys Lys Cys Asp Arg Cys Ala His Gly	
965	970 975
tac ttc aac ttc caa gaa gga ggc tgc ata gct tgt gac tgt tct cat	3096
Tyr Phe Asn Phe Gln Glu Gly Gly Cys Ile Ala Cys Asp Cys Ser His	
980	985 990
ctg ggc aac aac tgt gac cca aaa act ggc caa tgc att tgc cca ccc	3144
Leu Gly Asn Asn Cys Asp Pro Lys Thr Gly Gln Cys Ile Cys Pro Pro	
995	1000 1005
aat acc act gga gaa aag tgt tct gag tgt ctt ccc aac acc tgg	3189

Asn Thr Thr Gly Glu Lys Cys Ser Glu Cys Leu Pro Asn Thr Trp	
1010 1015 1020	
ggt cac agc att gtc acc ggc tgt aag gtt tgt aac tgc agc act	3234
Gly His Ser Ile Val Thr Gly Cys Lys Val Cys Asn Cys Ser Thr	
1025 1030 1035	
gtg ggg tcc ttg gct tct cag tgc aat gta aac acg ggc cag tgc	3279
Val Gly Ser Leu Ala Ser Gln Cys Asn Val Asn Thr Gly Gln Cys	
1040 1045 1050	
agc tgt cat cca aaa ttc tct ggt atg aaa tgc tca gag tgc agc	3324
Ser Cys His Pro Lys Phe Ser Gly Met Lys Cys Ser Glu Cys Ser	
1055 1060 1065	
cga ggt cac tgg aac tat cct ctc tgc act cta tgt gac tgc ttc	3369
Arg Gly His Trp Asn Tyr Pro Leu Cys Thr Leu Cys Asp Cys Phe	
1070 1075 1080	
ctt cca ggc aca gat gcc acg act tgt gat ctg gag act agg aaa	3414
Leu Pro Gly Thr Asp Ala Thr Thr Cys Asp Leu Glu Thr Arg Lys	
1085 1090 1095	
tgc tcc tgt agt gat caa act gga cag tgc agc tgt aag gtg aat	3459
Cys Ser Cys Ser Asp Gln Thr Gly Gln Cys Ser Cys Lys Val Asn	
1100 1105 1110	
gtg gaa ggc gtc cac tgt gac agg tgc cgg cct ggc aaa ttt gga	3504
Val Glu Gly Val His Cys Asp Arg Cys Arg Pro Gly Lys Phe Gly	
1115 1120 1125	
cta gat gcc aag aac cca ctt ggc tgc agc agc tgc tac tgc ttt	3549
Leu Asp Ala Lys Asn Pro Leu Gly Cys Ser Ser Cys Tyr Cys Phe	
1130 1135 1140	
gga gtt act agt caa tgc tot gaa gca aag ggg ctg atc cgt acg	3594

Gly Val	Thr Ser Gln Cys Ser	Glu Ala Lys Gly Leu	Ile Arg Thr	
1145	1150	1155		
tgg gtg	act ttg agt gat gaa	cag acc att cta cct	ctg gtg gat	3639
Trp Val	Thr Leu Ser Asp Glu	Gln Thr Ile Leu Pro	Leu Val Asp	
1160	1165	1170		
gag gcc	ctg cag cac acg act	acc aaa ggc att gct	ttc cag aaa	3684
Glu Ala	Leu Gln His Thr Thr	Thr Lys Gly Ile Ala	Phe Gln Lys	
1175	1180	1185		
cca gag	att gtt gca aag atg	gat gaa gtc agg caa	gag ctc cat	3729
Pro Glu	Ile Val Ala Lys Met	Asp Glu Val Arg Gln	Glu Leu His	
1190	1195	1200		
ttg gaa	cct ttt tac tgg aaa	ctc cca caa caa ttt	gaa ggg aaa	3774
Leu Glu	Pro Phe Tyr Trp Lys	Leu Pro Gln Gln Phe	Glu Gly Lys	
1205	1210	1215		
aag ttg	atg gct tat ggt ggc	aaa ctc aag tat gcc	atc tat ttt	3819
Lys Leu	Met Ala Tyr Gly Gly	Lys Leu Lys Tyr Ala	Ile Tyr Phe	
1220	1225	1230		
gag gct	cgg gat gag aca ggc	ttt gcc aca tat aaa	cct caa gtt	3864
Glu Ala	Arg Asp Glu Thr Gly	Phe Ala Thr Tyr Lys	Pro Gln Val	
1235	1240	1245		
atc att	cga ggt gga act cct	act cat gct aga att	att acc aga	3909
Ile Ile	Arg Gly Gly Thr Pro	Thr His Ala Arg Ile	Ile Thr Arg	
1250	1255	1260		
cac atg	gct gcc cct ctc att	ggc cag ttg aca cgg	cat gaa ata	3954
His Met	Ala Ala Pro Leu Ile	Gly Gln Leu Thr Arg	His Glu Ile	
1265	1270	1275		
gaa atg	aca gag aaa gaa tgg	aaa tat tat ggt gat	gat cct cga	3999

Glu Met Thr Glu Lys Glu Trp	Lys Tyr Tyr Gly Asp	Asp Pro Arg	
1280	1285	1290	
atc agt aga act gtg acc cgt	gaa gac ttc ttg gat	ata cta tat	4044
Ile Ser Arg Thr Val Thr Arg	Glu Asp Phe Leu Asp	Ile Leu Tyr	
1295	1300	1305	
gat att cac tat atc ctt atc	aag gct act tat gga	aac gtt gtg	4089
Asp Ile His Tyr Ile Leu Ile	Lys Ala Thr Tyr Gly	Asn Val Val	
1310	1315	1320	
aga caa agc cgc att tct gaa	atc tcc atg gaa gta	gct gaa cca	4134
Arg Gln Ser Arg Ile Ser Glu	Ile Ser Met Glu Val	Ala Glu Pro	
1325	1330	1335	
gga cat gta tta gca ggg agc	cca cca gca cac ttg	ata gaa aga	4179
Gly His Val Leu Ala Gly Ser	Pro Pro Ala His Leu	Ile Glu Arg	
1340	1345	1350	
tgc gat tgc cct cct ggc tat	tot ggc ttg tct tgt	gag acg tgt	4224
Cys Asp Cys Pro Pro Gly Tyr	Ser Gly Leu Ser Cys	Glu Thr Cys	
1355	1360	1365	
gca cca gga ttt tac cga ctt	cgt tct gaa cca ggt	ggg cgg act	4269
Ala Pro Gly Phe Tyr Arg Leu	Arg Ser Glu Pro Gly	Gly Arg Thr	
1370	1375	1380	
cct gga cca acc tta ggg acc	tgt gtt ccc tgc caa	tgt aat gga	4314
Pro Gly Pro Thr Leu Gly Thr	Cys Val Pro Cys Gln	Cys Asn Gly	
1385	1390	1395	
cac agc agt cag tgt gat cct	gag acc tca gta tgc	cag aat tgt	4359
His Ser Ser Gln Cys Asp Pro	Glu Thr Ser Val Cys	Gln Asn Cys	
1400	1405	1410	
cag cat cac act gct ggt gac	ttc tgt gag cgc tgt	gcc ctt ggc	4404

Gln His	His Thr Ala Gly Asp	Phe Cys Glu Arg Cys	Ala Leu Gly	
1415	1420	1425		
tac tat	gga atc gtc agg gga	ttg cca aat gac tgc	caa cca tgt	4449
Tyr Tyr	Gly Ile Val Arg Gly	Leu Pro Asn Asp Cys	Gln Pro Cys	
1430	1435	1440		
gct tgt	cct ctg att tcg ccc	agc aac aat ttc agc	ccc tct tgt	4494
Ala Cys	Pro Leu Ile Ser Pro	Ser Asn Asn Phe Ser	Pro Ser Cys	
1445	1450	1455		
gta ttg	gaa ggt ctg gaa gat	tac cgt tgc acc gcc	tgc cca agg	4539
Val Leu	Glu Gly Leu Glu Asp	Tyr Arg Cys Thr Ala	Cys Pro Arg	
1460	1465	1470		
ggc tat	gaa gga cag tac tgt	gaa agg tgt gcc cca	ggc tat act	4584
Gly Tyr	Glu Gly Gln Tyr Cys	Glu Arg Cys Ala Pro	Gly Tyr Thr	
1475	1480	1485		
ggc agc	cca agc agc ccc gga	ggc tcc tgc caa gaa	tgt gag tgt	4629
Gly Ser	Pro Ser Ser Pro Gly	Gly Ser Cys Gln Glu	Cys Glu Cys	
1490	1495	1500		
gac cct	tat ggc tcc cta ccg	gtt ccc tgt gac cgg	gtc aca gga	4674
Asp Pro	Tyr Gly Ser Leu Pro	Val Pro Cys Asp Arg	Val Thr Gly	
1505	1510	1515		
ctc tgc	acg tgc cgc cct gga	gcc aca gga agg aag	tgt gat ggc	4719
Leu Cys	Thr Cys Arg Pro Gly	Ala Thr Gly Arg Lys	Cys Asp Gly	
1520	1525	1530		
tgc gag	cac tgg cat gca cgc	gag ggt gca gag tgt	gtc ttt tgt	4764
Cys Glu	His Trp His Ala Arg	Glu Gly Ala Glu Cys	Val Phe Cys	
1535	1540	1545		
gga gac	gag tgt aca ggc ctt	ctt ctt ggt gac ctg	gct cgt cta	4809

Gly Asp	Glu Cys Thr Gly Leu	Leu Leu Gly Asp Leu	Ala Arg Leu	
1550	1555	1560		
gag cag	atg acc atg aac atc	aac ctc acg ggc cca	ctg cct gct	4854
Glu Gln	Met Thr Met Asn Ile	Asn Leu Thr Gly Pro	Leu Pro Ala	
1565	1570	1575		
cca tat	aaa att ctg tat ggt	ctt gaa aat aca act	cag gaa ctc	4899
Pro Tyr	Lys Ile Leu Tyr Gly	Leu Glu Asn Thr Thr	Gln Glu Leu	
1580	1585	1590		
aag cac	ctg cta tca ccg caa	cgg gca cca gag agg	ctc att cag	4944
Lys His	Leu Leu Ser Pro Gln	Arg Ala Pro Glu Arg	Leu Ile Gln	
1595	1600	1605		
ttg gca	gag ggc aac gtg aac	aca ctt gtg atg gaa	aca aat gag	4989
Leu Ala	Glu Gly Asn Val Asn	Thr Leu Val Met Glu	Thr Asn Glu	
1610	1615	1620		
ctg cta	acc aga gca acc aaa	gtg aca gca gat ggt	gag caa aca	5034
Leu Leu	Thr Arg Ala Thr Lys	Val Thr Ala Asp Gly	Glu Gln Thr	
1625	1630	1635		
gga caa	gat gct gag agg acc	aac tcc aga gca gaa	tcc ttg gaa	5079
Gly Gln	Asp Ala Glu Arg Thr	Asn Ser Arg Ala Glu	Ser Leu Glu	
1640	1645	1650		
gaa ttc	att aaa ggg ctt gtc	cag gat gct gaa gcc	ata aat gaa	5124
Glu Phe	Ile Lys Gly Leu Val	Gln Asp Ala Glu Ala	Ile Asn Glu	
1655	1660	1665		
aaa gct	gta aaa cta aat gaa	acc tta gga aat caa	gat aag aca	5169
Lys Ala	Val Lys Leu Asn Glu	Thr Leu Gly Asn Gln	Asp Lys Thr	
1670	1675	1680		
gca gag	aga aac ttg gag gag	ctt caa aag gaa atc	gac cgg atg	5214

Ala Glu	Arg Asn Leu Glu Glu	Leu Gln Lys Glu Ile	Asp Arg Met	
1685	1690	1695		
ctg aag	gaa ctg aga agt aaa	gat ctt caa aca cag	aag gaa gtt	5259
Leu Lys	Glu Leu Arg Ser Lys	Asp Leu Gln Thr Gln	Lys Glu Val	
1700	1705	1710		
gct gag	gat gag ctc gtg gca	gca gaa ggc ctt ctg	aag aga gta	5304
Ala Glu	Asp Glu Leu Val Ala	Ala Glu Gly Leu Leu	Lys Arg Val	
1715	1720	1725		
aac aag	ctg ttt gga gag ccc	aga gcc cag aat gaa	gat atg gaa	5349
Asn Lys	Leu Phe Gly Glu Pro	Arg Ala Gln Asn Glu	Asp Met Glu	
1730	1735	1740		
aag gat	ctc cag cag aaa ctg	gca gag tac aag aac	aaa ctt gat	5394
Lys Asp	Leu Gln Gln Lys Leu	Ala Glu Tyr Lys Asn	Lys Leu Asp	
1745	1750	1755		
gat gct	tgg gat cta ttg aga	gaa gcc act gat aaa	acc cga gat	5439
Asp Ala	Trp Asp Leu Leu Arg	Glu Ala Thr Asp Lys	Thr Arg Asp	
1760	1765	1770		
gct aat	cgt ttg tct gct gcc	aat caa aaa aac atg	acc ata ctg	5484
Ala Asn	Arg Leu Ser Ala Ala	Asn Gln Lys Asn Met	Thr Ile Leu	
1775	1780	1785		
gag aca	aag aag gag gct att	gaa ggt agc aaa cga	caa ata gag	5529
Glu Thr	Lys Lys Glu Ala Ile	Glu Gly Ser Lys Arg	Gln Ile Glu	
1790	1795	1800		
aac act	tta aag gaa ggc aat	gac atc ctt gat gaa	gcc aat caa	5574
Asn Thr	Leu Lys Glu Gly Asn	Asp Ile Leu Asp Glu	Ala Asn Gln	
1805	1810	1815		
ctc tta	ggg gaa atc aac tca	gtc ata gat tat gtc	gac gac att	5619

Leu Leu Gly Glu Ile Asn Ser Val Ile Asp Tyr Val Asp Asp Ile	
1820	1825 1830
aaa act aag ttg cca cca atg tcc gag gag ctg agt gac aaa ata	5664
Lys Thr Lys Leu Pro Pro Met Ser Glu Glu Leu Ser Asp Lys Ile	
1835	1840 1845
gat gac ctc gcc cag gaa ata aag gac aga agg ctt gct gag aag	5709
Asp Asp Leu Ala Gln Glu Ile Lys Asp Arg Arg Leu Ala Glu Lys	
1850	1855 1860
gtg ttc cag gct gag agc cat gct gct cag ctg aac gac tcg tct	5754
Val Phe Gln Ala Glu Ser His Ala Ala Gln Leu Asn Asp Ser Ser	
1865	1870 1875
gct gta ctt gat gga atc ctg gat gag gct aag aac atc tct ttc	5799
Ala Val Leu Asp Gly Ile Leu Asp Glu Ala Lys Asn Ile Ser Phe	
1880	1885 1890
aat gcc acg gca gcc ttc aga gct tac agt aat att aaa gac tac	5844
Asn Ala Thr Ala Ala Phe Arg Ala Tyr Ser Asn Ile Lys Asp Tyr	
1895	1900 1905
att gat gaa gct gag aaa gtg gcc aga gaa gcc aaa gag ctt gcc	5889
Ile Asp Glu Ala Glu Lys Val Ala Arg Glu Ala Lys Glu Leu Ala	
1910	1915 1920
caa ggg gct aca aaa ctg gca aca agt cct cag ggc tta tta aaa	5934
Gln Gly Ala Thr Lys Leu Ala Thr Ser Pro Gln Gly Leu Leu Lys	
1925	1930 1935
gaa gat gcc aaa ggc tcc ctt cag aaa agc ttc agg atc ctc aat	5979
Glu Asp Ala Lys Gly Ser Leu Gln Lys Ser Phe Arg Ile Leu Asn	
1940	1945 1950
gaa gcc aag aag cta gca aac gat gtg aaa gga aat cac aat gat	6024

Glu Ala	Lys Lys Leu Ala Asn	Asp Val Lys Gly Asn	His Asn Asp	
1955	1960	1965		
cta aat	gac ctg aaa acc agg	tta gaa act gct gac	ctt aga aac	6069
Leu Asn	Asp Leu Lys Thr Arg	Leu Glu Thr Ala Asp	Leu Arg Asn	
1970	1975	1980		
agt gga	ctt cta gga gct cta	aat gac acc atg gac	aag tta tca	6114
Ser Gly	Leu Leu Gly Ala Leu	Asn Asp Thr Met Asp	Lys Leu Ser	
1985	1990	1995		
gcc att	aca aat gac acg gct	gct aaa ctg cag gct	gtc aaa gag	6159
Ala Ile	Thr Asn Asp Thr Ala	Ala Lys Leu Gln Ala	Val Lys Glu	
2000	2005	2010		
aaa gcc	aga gaa gcc aat gac	aca gca aaa gct gtc	ctg gcc cag	6204
Lys Ala	Arg Glu Ala Asn Asp	Thr Ala Lys Ala Val	Leu Ala Gln	
2015	2020	2025		
gtt aag	gac ctg cat cag aac	cta gat ggc ctg aag	caa aac tac	6249
Val Lys	Asp Leu His Gln Asn	Leu Asp Gly Leu Lys	Gln Asn Tyr	
2030	2035	2040		
aat aaa	ctg gca gac agc gtg	gcc aaa acg aac gct	gtg gtg aaa	6294
Asn Lys	Leu Ala Asp Ser Val	Ala Lys Thr Asn Ala	Val Val Lys	
2045	2050	2055		
gat cct	tcc aaa aac aaa atc	att gca gat gca ggc	act tcc gtg	6339
Asp Pro	Ser Lys Asn Lys Ile	Ile Ala Asp Ala Gly	Thr Ser Val	
2060	2065	2070		
aga aat	cta gaa cag gaa gct	gac cgg cta atc gac	aaa ctc aag	6384
Arg Asn	Leu Glu Gln Glu Ala	Asp Arg Leu Ile Asp	Lys Leu Lys	
2075	2080	2085		
ccc atc	aag gag ctt gag gac	aac cta aag aaa aac	att tct gaa	6429

Pro Ile Lys Glu Leu Glu Asp	Asn Leu Lys Lys Asn	Ile Ser Glu	
2090	2095	2100	
ata aag gaa ctg atc aac caa	gct cgg aaa caa gct	aac tct atc	6474
Ile Lys Glu Leu Ile Asn Gln	Ala Arg Lys Gln Ala	Asn Ser Ile	
2105	2110	2115	
aaa gta tct gtt tct tcg gga	ggt gac tgt gtt cgg	aca tac agg	6519
Lys Val Ser Val Ser Ser Gly	Gly Asp Cys Val Arg	Thr Tyr Arg	
2120	2125	2130	
cca gaa atc aag aaa gga agc	tac aat aac atc gtt	gtc cat gtc	6564
Pro Glu Ile Lys Lys Gly Ser	Tyr Asn Asn Ile Val	Val His Val	
2135	2140	2145	
aag acc gct gtt gcc gac aac	ctc ctt ttt tat ctt	gga agt gcc	6609
Lys Thr Ala Val Ala Asp Asn	Leu Leu Phe Tyr Leu	Gly Ser Ala	
2150	2155	2160	
aaa ttt att gac ttt ctt gct	ata gaa atg cgc aaa	ggc aaa gtc	6654
Lys Phe Ile Asp Phe Leu Ala	Ile Glu Met Arg Lys	Gly Lys Val	
2165	2170	2175	
agc ttc ctc tgg att gtt ggc	tct gga gtt ggc cga	gta ggg ttt	6699
Ser Phe Leu Trp Ile Val Gly	Ser Gly Val Gly Arg	Val Gly Phe	
2180	2185	2190	
cca gac ttg acc atc gac gac	tcc tat tgg tac cgt	att gaa gca	6744
Pro Asp Leu Thr Ile Asp Asp	Ser Tyr Trp Tyr Arg	Ile Glu Ala	
2195	2200	2205	
tca aga acg gga aga aat gga	tct att tct gtg aga	gct tta gat	6789
Ser Arg Thr Gly Arg Asn Gly	Ser Ile Ser Val Arg	Ala Leu Asp	
2210	2215	2220	
gga ccc aaa gcc agt atg gta	ccc agc acc tac cat	tca gtg tct	6834

Gly Pro	Lys Ala Ser Met Val	Pro Ser Thr Tyr His	Ser Val Ser	
2225	2230	2235		
cct ccc	ggg tat act atc cta	gat gtg gat gca aat	gca atg ctg	6879
Pro Pro	Gly Tyr Thr Ile Leu	Asp Val Asp Ala Asn	Ala Met Leu	
2240	2245	2250		
ttt gtt	ggg ggc ctg acc gga	aaa ata aag aag gcc	gat gct gta	6924
Phe Val	Gly Gly Leu Thr Gly	Lys Ile Lys Lys Ala	Asp Ala Val	
2255	2260	2265		
cgt gtg	atc acc ttc acc ggc	tgt atg gga gaa aca	tac ttt gac	6969
Arg Val	Ile Thr Phe Thr Gly	Cys Met Gly Glu Thr	Tyr Phe Asp	
2270	2275	2280		
aac aaa	cct ata ggt tta tgg	aac ttc cgg gag aaa	gaa ggc gac	7014
Asn Lys	Pro Ile Gly Leu Trp	Asn Phe Arg Glu Lys	Glu Gly Asp	
2285	2290	2295		
tgt aag	gga tgt act gtc agc	cca caa gtg gaa gat	agt gag ggg	7059
Cys Lys	Gly Cys Thr Val Ser	Pro Gln Val Glu Asp	Ser Glu Gly	
2300	2305	2310		
act att	cag ttt gat ggt gaa	ggc tat gca tta gtg	agc cgg ccc	7104
Thr Ile	Gln Phe Asp Gly Glu	Gly Tyr Ala Leu Val	Ser Arg Pro	
2315	2320	2325		
atc cgc	tgg tac ccc aac atc	tcg aca gtc atg ttc	aag ttc cgg	7149
Ile Arg	Trp Tyr Pro Asn Ile	Ser Thr Val Met Phe	Lys Phe Arg	
2330	2335	2340		
aca ttt	tca tca agt gct ctc	ctg atg tat ctt gcc	aca cga gac	7194
Thr Phe	Ser Ser Ser Ala Leu	Leu Met Tyr Leu Ala	Thr Arg Asp	
2345	2350	2355		
ctg aaa	gat ttc atg agt gta	gag ctc agt gat gga	cat gtg aaa	7239

Leu Lys	Asp Phe Met Ser Val	Glu Leu Ser Asp Gly	His Val Lys	
2360	2365	2370		
gtc agc	tat gac ctg ggc tca	gga atg act tcc gtt	gtc agc aat	7284
Val Ser	Tyr Asp Leu Gly Ser	Gly Met Thr Ser Val	Val Ser Asn	
2375	2380	2385		
caa aac	cat aat gat ggg aaa	tgg aaa gca ttc acg	ctg tcg cgg	7329
Gln Asn	His Asn Asp Gly Lys	Trp Lys Ala Phe Thr	Leu Ser Arg	
2390	2395	2400		
att cag	aaa caa gcc aac ata	tcg att gtc gac atc	gat tct aac	7374
Ile Gln	Lys Gln Ala Asn Ile	Ser Ile Val Asp Ile	Asp Ser Asn	
2405	2410	2415		
cag gag	gag aat gta gct act	tca tct tct gga aac	aac ttt ggt	7419
Gln Glu	Glu Asn Val Ala Thr	Ser Ser Ser Gly Asn	Asn Phe Gly	
2420	2425	2430		
ctt gac	ttg aaa gca gat gac	aaa ata tat ttt ggt	ggc ctg cca	7464
Leu Asp	Leu Lys Ala Asp Asp	Lys Ile Tyr Phe Gly	Gly Leu Pro	
2435	2440	2445		
act ctg	aga aac ttg agt atg	aaa gca agg cca gaa	gtc aat gtg	7509
Thr Leu	Arg Asn Leu Ser Met	Lys Ala Arg Pro Glu	Val Asn Val	
2450	2455	2460		
aag aaa	tac tcc ggc tgc ctc	aaa gat att gaa att	tca aga aca	7554
Lys Lys	Tyr Ser Gly Cys Leu	Lys Asp Ile Glu Ile	Ser Arg Thr	
2465	2470	2475		
cct tac	aat ata ctc agc agc	cct gat tat gtt ggt	gtg acc aaa	7599
Pro Tyr	Asn Ile Leu Ser Ser	Pro Asp Tyr Val Gly	Val Thr Lys	
2480	2485	2490		
ggc tgt	tca ctg gag aat gtt	aat aca gtt agt ttc	ccc aag cct	7644

Gly Cys	Ser Leu Glu Asn Val	Asn Thr Val Ser Phe	Pro Lys Pro	
2495	2500	2505		
ggt ttt	gtg gag ctt gcc got	gtg tct att gat gtt	gga aca gaa	7689
Gly Phe	Val Glu Leu Ala Ala	Val Ser Ile Asp Val	Gly Thr Glu	
2510	2515	2520		
atc aat	ctg tcc ttt agt acc	agg aac gag tct ggg	atc att ctc	7734
Ile Asn	Leu Ser Phe Ser Thr	Arg Asn Glu Ser Gly	Ile Ile Leu	
2525	2530	2535		
ttg gga	agt gga ggg aca ctc	aca cca ccc agg aga	aaa cgg aga	7779
Leu Gly	Ser Gly Gly Thr Leu	Thr Pro Pro Arg Arg	Lys Arg Arg	
2540	2545	2550		
caa acc	aca cag gct tat tat	gcc ata ttc ctc aac	aag ggc cgc	7824
Gln Thr	Thr Gln Ala Tyr Tyr	Ala Ile Phe Leu Asn	Lys Gly Arg	
2555	2560	2565		
ttg gaa	gtg cat ctc tcc tcg	ggg aca cgg aca atg	agg aaa att	7869
Leu Glu	Val His Leu Ser Ser	Gly Thr Arg Thr Met	Arg Lys Ile	
2570	2575	2580		
gtc atc	aaa ccg gag cca aat	ttg ttt cat gat ggg	aga gaa cat	7914
Val Ile	Lys Pro Glu Pro Asn	Leu Phe His Asp Gly	Arg Glu His	
2585	2590	2595		
tct gtc	cac gta gaa aga acc	aga ggc atc ttc act	gtt caa att	7959
Ser Val	His Val Glu Arg Thr	Arg Gly Ile Phe Thr	Val Gln Ile	
2600	2605	2610		
gat gaa	gac aga aga cat atc	caa aac ctg aca gag	gaa cag ccc	8004
Asp Glu	Asp Arg Arg His Ile	Gln Asn Leu Thr Glu	Glu Gln Pro	
2615	2620	2625		
atc gaa	gtg aaa aag ctc ttt	gtc ggg ggt gct cct	cct gaa ttt	8049

Ile Glu Val Lys Lys Leu Phe	Val Gly Gly Ala Pro	Pro Glu Phe	
2630	2635	2640	
cag ccc tcc cca ctc agg aat	att ccc gcc ttt caa	ggc tgt gtg	8094
Gln Pro Ser Pro Leu Arg Asn	Ile Pro Ala Phe Gln	Gly Cys Val	
2645	2650	2655	
tgg aac ott gtt att aac tcc	atc ccc atg gac ttt	gcg cag cct	8139
Trp Asn Leu Val Ile Asn Ser	Ile Pro Met Asp Phe	Ala Gln Pro	
2660	2665	2670	
ata gcc ttc aaa aat gcc gac	att ggt cgc tgt acc	tat caa aag	8184
Ile Ala Phe Lys Asn Ala Asp	Ile Gly Arg Cys Thr	Tyr Gln Lys	
2675	2680	2685	
ccc cgg gaa gat gag agt gaa	gca gtt cca gct gaa	gtt att gtc	8229
Pro Arg Glu Asp Glu Ser Glu	Ala Val Pro Ala Glu	Val Ile Val	
2690	2695	2700	
cag cct cag tcg gtg ccc acc	cct gcc ttc cct ttc	cca gtc ccc	8274
Gln Pro Gln Ser Val Pro Thr	Pro Ala Phe Pro Phe	Pro Val Pro	
2705	2710	2715	
acc atg gtg cat ggc cct tgt	gtt gca gaa tca gaa	cca gct ctt	8319
Thr Met Val His Gly Pro Cys	Val Ala Glu Ser Glu	Pro Ala Leu	
2720	2725	2730	
ctg aca ggg agc aag cag ttt	ggg ctt tcc aga aac	agc cac att	8364
Leu Thr Gly Ser Lys Gln Phe	Gly Leu Ser Arg Asn	Ser His Ile	
2735	2740	2745	
gca att gtc ttt gat gac acc	aaa gtt aaa aac cgc	ctc acc att	8409
Ala Ile Val Phe Asp Asp Thr	Lys Val Lys Asn Arg	Leu Thr Ile	
2750	2755	2760	
gag ctg gag gta cga act gaa	gct gaa tca ggc ttg	ctc ttc tac	8454

Glu Leu	Glu Val	Arg Thr	Glu	Ala Glu	Ser Gly	Leu	Leu Phe Tyr	
2765			2770			2775		
atg ggt	cgg atc	aat cat	gct	gat ttt	ggt act	gtt	cag ctg agg	8499
Met Gly	Arg Ile	Asn His	Ala	Asp Phe	Gly Thr	Val	Gln Leu Arg	
2780			2785			2790		
aat ggg	ttc ccg	ttc ttc	agt	tat gat	ttg ggg	agt	ggg agc acc	8544
Asn Gly	Phe Pro	Phe Phe	Ser	Tyr Asp	Leu Gly	Ser	Gly Ser Thr	
2795			2800			2805		
aga acc	atg atc	ccc aca	aaa	atc aac	gat ggt	cag	tgg cac aag	8589
Arg Thr	Met Ile	Pro Thr	Lys	Ile Asn	Asp Gly	Gln	Trp His Lys	
2810			2815			2820		
att aag	att gtg	aga gtg	aag	cag gag	gga att	ctt	tat gtg gat	8634
Ile Lys	Ile Val	Arg Val	Lys	Gln Glu	Gly Ile	Leu	Tyr Val Asp	
2825			2830			2835		
gat gcc	tcc agc	caa acc	atc	agt ccc	aag aaa	gcc	gac atc ctg	8679
Asp Ala	Ser Ser	Gln Thr	Ile	Ser Pro	Lys Lys	Ala	Asp Ile Leu	
2840			2845			2850		
gat gtc	ggg ggg	att ctg	tat	gtc ggt	gga ttg	ccg	atc aac tat	8724
Asp Val	Gly Gly	Ile Leu	Tyr	Val Gly	Gly Leu	Pro	Ile Asn Tyr	
2855			2860			2865		
acc aca	cgc aga	att ggt	cca	gtg act	tac agc	ctg	gat ggc tgt	8769
Thr Thr	Arg Arg	Ile Gly	Pro	Val Thr	Tyr Ser	Leu	Asp Gly Cys	
2870			2875			2880		
gtt agg	aat ctt	cac atg	gaa	caa gcc	cct gtt	gat	ctg gac cag	8814
Val Arg	Asn Leu	His Met	Glu	Gln Ala	Pro Val	Asp	Leu Asp Gln	
2885			2890			2895		
cct acc	tcc agc	ttt cac	gtt	ggg aca	tgc ttt	gcg	aat gca gag	8859

Pro Thr	Ser Ser Phe His Val	Gly Thr Cys Phe Ala	Asn Ala Glu	
2900	2905	2910		
agt ggg	act tac ttt gat gga	acc ggt ttt ggt aaa	gca gtt ggt	8904
Ser Gly	Thr Tyr Phe Asp Gly	Thr Gly Phe Gly Lys	Ala Val Gly	
2915	2920	2925		
ggg ttc	atc gtt gga ttg gac	ctt ott gtg gaa ttt	gaa ttc cgt	8949
Gly Phe	Ile Val Gly Leu Asp	Leu Leu Val Glu Phe	Glu Phe Arg	
2930	2935	2940		
acc aca	aga ccc act ggg gtc	ctc ctg ggg atc agc	agt cag aag	8994
Thr Thr	Arg Pro Thr Gly Val	Leu Leu Gly Ile Ser	Ser Gln Lys	
2945	2950	2955		
atg gat	gga atg ggt att gaa	atg atc gac gag aag	ctt atg ttc	9039
Met Asp	Gly Met Gly Ile Glu	Met Ile Asp Glu Lys	Leu Met Phe	
2960	2965	2970		
cac gtg	gat aat ggc gct ggc	cga ttc act gca att	tat gat gct	9084
His Val	Asp Asn Gly Ala Gly	Arg Phe Thr Ala Ile	Tyr Asp Ala	
2975	2980	2985		
gag atc	cca ggc cac atg tgc	aat gga cag tgg tat	aaa gtc act	9129
Glu Ile	Pro Gly His Met Cys	Asn Gly Gln Trp Tyr	Lys Val Thr	
2990	2995	3000		
gcc aag	aag atc aaa aac cgt	ctt gag ctg gtg gta	gat ggg aac	9174
Ala Lys	Lys Ile Lys Asn Arg	Leu Glu Leu Val Val	Asp Gly Asn	
3005	3010	3015		
cag gtg	gat gcc cag agc cca	aac tca gca tcg aca	tca gct gat	9219
Gln Val	Asp Ala Gln Ser Pro	Asn Ser Ala Ser Thr	Ser Ala Asp	
3020	3025	3030		
aca aac	gac cct gtt ttc gtt	ggc ggt ttc cca ggt	ggc ctc aat	9264

Thr Asn Asp Pro Val Phe Val Gly Gly Phe Pro Gly Gly Leu Asn
 3035 3040 3045
 cag ttt ggc ctg acc acc aac att agg ttc cga ggc tgc atc cga 9309
 Gln Phe Gly Leu Thr Thr Asn Ile Arg Phe Arg Gly Cys Ile Arg
 3050 3055 3060
 tct ctg aag ctc acc aaa ggc act gca aac cgc tgg agg tta att 9354
 Ser Leu Lys Leu Thr Lys Gly Thr Ala Asn Arg Trp Arg Leu Ile
 3065 3070 3075
 ttg cca agg ccc tgg aac tgaggggtgt tcaacctgta tcatgcccga 9402
 Leu Pro Arg Pro Trp Asn
 3080
 ctacctataa aagatagttc aatcctgagg agaattcatc aaaacaagta tatcaagtta 9462
 aacaatatac actcctatca tattaataaa actaatgtgc agcggccgc 9511

<210> 6
 <211> 3084
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 6

Gln Arg Arg Gln Ser Gln Ala His Gln Gln Arg Gly Leu Phe Pro Ala
 1 5 10 15

Val Leu Asn Leu Ala Ser Asn Ala Leu Ile Thr Thr Asn Ala Thr Cys
 20 25 30

Gly Glu Lys Gly Pro Glu Met Tyr Cys Lys Leu Val Glu His Val Pro

35 40 45

Gly Gln Pro Val Arg Asn Pro Gln Cys Arg Ile Cys Asn Gln Asn Ser
50 55 60

Ser Asn Pro Tyr Gln Arg His Pro Ile Thr Asn Ala Ile Asp Gly Lys
65 70 75 80

Asn Thr Trp Trp Gln Ser Pro Ser Ile Lys Asn Gly Val Glu Tyr His
85 90 95

Tyr Val Thr Ile Thr Leu Asp Leu Gln Gln Val Phe Gln Ile Ala Tyr
100 105 110

Val Ile Val Lys Ala Ala Asn Ser Pro Arg Pro Gly Asn Trp Ile Leu
115 120 125

Glu Arg Ser Leu Asp Asp Val Glu Tyr Lys Pro Trp Gln Tyr His Ala
130 135 140

Val Thr Asp Thr Glu Cys Leu Thr Leu Tyr Asn Ile Tyr Pro Arg Thr
145 150 155 160

Gly Pro Pro Ser Tyr Ala Lys Asp Asp Glu Val Ile Cys Thr Ser Phe
165 170 175

Tyr Ser Lys Ile His Pro Leu Glu Asn Gly Glu Ile His Ile Ser Leu

180 185 190
Ile Asn Gly Arg Pro Ser Ala Asp Asp Pro Ser Pro Glu Leu Leu Glu
195 200 205
Phe Thr Ser Ala Arg Tyr Ile Arg Leu Arg Phe Gln Arg Ile Arg Thr
210 215 220
Leu Asn Ala Asp Leu Met Met Phe Ala His Lys Asp Pro Arg Glu Ile
225 230 235 240
Asp Pro Ile Val Thr Arg Arg Tyr Tyr Tyr Ser Val Lys Asp Ile Ser
245 250 255
Val Gly Gly Met Cys Ile Cys Tyr Gly His Ala Arg Ala Cys Pro Leu
260 265 270
Asp Pro Ala Thr Asn Lys Ser Arg Cys Glu Cys Glu His Asn Thr Cys
275 280 285
Gly Glu Ser Cys Asp Arg Cys Cys Pro Gly Phe His Gln Lys Pro Trp
290 295 300
Arg Ala Gly Thr Phe Leu Thr Lys Ser Glu Cys Glu Ala Cys Asn Cys
305 310 315 320
His Gly Lys Ala Glu Glu Cys Tyr Tyr Asp Glu Thr Val Ala Ser Arg

325 330 335

Asn Leu Ser Leu Asn Ile His Gly Lys Tyr Ile Gly Gly Gly Val Cys
340 345 350

Ile Asn Cys Thr His Asn Thr Ala Gly Ile Asn Cys Glu Thr Cys Val
355 360 365

Asp Gly Phe Phe Arg Pro Lys Gly Val Ser Pro Asn Tyr Pro Arg Pro
370 375 380

Cys Gln Pro Cys His Cys Asp Pro Thr Gly Ser Leu Ser Glu Val Cys
385 390 395 400

Val Lys Asp Glu Lys Tyr Ala Gln Arg Gly Leu Lys Pro Gly Ser Cys
405 410 415

His Cys Lys Thr Gly Phe Gly Gly Val Asn Cys Asp Arg Cys Val Arg
420 425 430

Gly Tyr His Gly Tyr Pro Asp Cys Gln Pro Cys Asn Cys Ser Gly Leu
435 440 445

Gly Ser Thr Asn Glu Asp Pro Cys Val Gly Pro Cys Ser Cys Lys Glu
450 455 460

Asn Val Glu Gly Glu Asp Cys Ser Arg Cys Lys Ser Gly Phe Phe Asn

45/214

610 615 620

Glu Glu Val Ser Leu Lys Glu Glu Ala Phe Thr Ile His Gly Thr Asn
625 630 635 640

Leu Pro Val Thr Arg Lys Asp Phe Met Ile Val Leu Thr Asn Leu Gly
645 650 655

Glu Ile Leu Ile Gln Ile Thr Tyr Asn Leu Gly Met Asp Ala Ile Phe
660 665 670

Arg Leu Ser Ser Val Asn Leu Glu Ser Pro Val Pro Tyr Pro Thr Asp
675 680 685

Arg Arg Ile Ala Thr Asp Val Glu Val Cys Gln Cys Pro Pro Gly Tyr
690 695 700

Ser Gly Ser Ser Cys Glu Thr Cys Trp Pro Arg His Arg Arg Val Asn
705 710 715 720

Gly Thr Ile Phe Gly Gly Ile Cys Glu Pro Cys Gln Cys Phe Ala His
725 730 735

Ala Glu Ala Cys Asp Asp Ile Thr Gly Glu Cys Leu Asn Cys Lys Asp
740 745 750

His Thr Gly Gly Pro Tyr Cys Asn Glu Cys Leu Pro Gly Phe Tyr Gly

755	760	765
Asp Pro Thr Arg Gly Ser Pro Glu Asp Cys Gln Pro Cys Ala Cys Pro		
770	775	780
Leu Asn Ile Pro Ser Asn Asn Phe Ser Pro Thr Cys His Leu Asp Arg		
785	790	795 800
Ser Leu Gly Leu Ile Cys Asp Glu Cys Pro Ile Gly Tyr Thr Gly Pro		
805	810	815
Arg Cys Glu Arg Cys Ala Glu Gly Tyr Phe Gly Gln Pro Ser Val Pro		
820	825	830
Gly Gly Ser Cys Gln Pro Cys Gln Cys Asn Asp Asn Leu Asp Tyr Ser		
835	840	845
Ile Pro Gly Ser Cys Asp Ser Leu Ser Gly Ser Cys Leu Ile Cys Lys		
850	855	860
Pro Gly Thr Thr Gly Arg Tyr Cys Glu Leu Cys Ala Asp Gly Tyr Phe		
865	870	875 880
Gly Asp Ala Val Asn Thr Lys Asn Cys Gln Pro Cys Arg Cys Asp Ile		
885	890	895
Asn Gly Ser Phe Ser Glu Asp Cys His Thr Arg Thr Gly Gln Cys Glu		

900	905	910
Cys Arg Pro Asn Val Gln Gly Arg His Cys Asp Glu Cys Lys Pro Glu		
915	920	925
Thr Phe Gly Leu Gln Leu Gly Arg Gly Cys Leu Pro Cys Asn Cys Asn		
930	935	940
Ser Phe Gly Ser Lys Ser Phe Asp Cys Glu Ala Ser Gly Gln Cys Trp		
945	950	955 960
Cys Gln Pro Gly Val Ala Gly Lys Lys Cys Asp Arg Cys Ala His Gly		
965	970	975
Tyr Phe Asn Phe Gln Glu Gly Gly Cys Ile Ala Cys Asp Cys Ser His		
980	985	990
Leu Gly Asn Asn Cys Asp Pro Lys Thr Gly Gln Cys Ile Cys Pro Pro		
995	1000	1005
Asn Thr Thr Gly Glu Lys Cys Ser Glu Cys Leu Pro Asn Thr Trp		
1010	1015	1020
Gly His Ser Ile Val Thr Gly Cys Lys Val Cys Asn Cys Ser Thr		
1025	1030	1035

Val Gly Ser Leu Ala Ser Gln Cys Asn Val Asn Thr Gly Gln Cys
1040 1045 1050

Ser Cys His Pro Lys Phe Ser Gly Met Lys Cys Ser Glu Cys Ser
1055 1060 1065

Arg Gly His Trp Asn Tyr Pro Leu Cys Thr Leu Cys Asp Cys Phe
1070 1075 1080

Leu Pro Gly Thr Asp Ala Thr Thr Cys Asp Leu Glu Thr Arg Lys
1085 1090 1095

Cys Ser Cys Ser Asp Gln Thr Gly Gln Cys Ser Cys Lys Val Asn
1100 1105 1110

Val Glu Gly Val His Cys Asp Arg Cys Arg Pro Gly Lys Phe Gly
1115 1120 1125

Leu Asp Ala Lys Asn Pro Leu Gly Cys Ser Ser Cys Tyr Cys Phe
1130 1135 1140

Gly Val Thr Ser Gln Cys Ser Glu Ala Lys Gly Leu Ile Arg Thr
1145 1150 1155

Trp Val Thr Leu Ser Asp Glu Gln Thr Ile Leu Pro Leu Val Asp
1160 1165 1170

Glu Ala Leu Gln His Thr Thr Thr Lys Gly Ile Ala Phe Gln Lys
1175 1180 1185

Pro Glu Ile Val Ala Lys Met Asp Glu Val Arg Gln Glu Leu His
1190 1195 1200

Leu Glu Pro Phe Tyr Trp Lys Leu Pro Gln Gln Phe Glu Gly Lys
1205 1210 1215

Lys Leu Met Ala Tyr Gly Gly Lys Leu Lys Tyr Ala Ile Tyr Phe
1220 1225 1230

Glu Ala Arg Asp Glu Thr Gly Phe Ala Thr Tyr Lys Pro Gln Val
1235 1240 1245

Ile Ile Arg Gly Gly Thr Pro Thr His Ala Arg Ile Ile Thr Arg
1250 1255 1260

His Met Ala Ala Pro Leu Ile Gly Gln Leu Thr Arg His Glu Ile
1265 1270 1275

Glu Met Thr Glu Lys Glu Trp Lys Tyr Tyr Gly Asp Asp Pro Arg
1280 1285 1290

Ile Ser Arg Thr Val Thr Arg Glu Asp Phe Leu Asp Ile Leu Tyr
1295 1300 1305

Asp Ile His Tyr Ile Leu Ile Lys Ala Thr Tyr Gly Asn Val Val
1310 1315 1320

Arg Gln Ser Arg Ile Ser Glu Ile Ser Met Glu Val Ala Glu Pro
1325 1330 1335

Gly His Val Leu Ala Gly Ser Pro Pro Ala His Leu Ile Glu Arg
1340 1345 1350

Cys Asp Cys Pro Pro Gly Tyr Ser Gly Leu Ser Cys Glu Thr Cys
1355 1360 1365

Ala Pro Gly Phe Tyr Arg Leu Arg Ser Glu Pro Gly Gly Arg Thr
1370 1375 1380

Pro Gly Pro Thr Leu Gly Thr Cys Val Pro Cys Gln Cys Asn Gly
1385 1390 1395

His Ser Ser Gln Cys Asp Pro Glu Thr Ser Val Cys Gln Asn Cys
1400 1405 1410

Gln His His Thr Ala Gly Asp Phe Cys Glu Arg Cys Ala Leu Gly
1415 1420 1425

Tyr Tyr Gly Ile Val Arg Gly Leu Pro Asn Asp Cys Gln Pro Cys
1430 1435 1440

Ala Cys Pro Leu Ile Ser Pro Ser Asn Asn Phe Ser Pro Ser Cys
1445 1450 1455

Val Leu Glu Gly Leu Glu Asp Tyr Arg Cys Thr Ala Cys Pro Arg
1460 1465 1470

Gly Tyr Glu Gly Gln Tyr Cys Glu Arg Cys Ala Pro Gly Tyr Thr
1475 1480 1485

Gly Ser Pro Ser Ser Pro Gly Gly Ser Cys Gln Glu Cys Glu Cys
1490 1495 1500

Asp Pro Tyr Gly Ser Leu Pro Val Pro Cys Asp Arg Val Thr Gly
1505 1510 1515

Leu Cys Thr Cys Arg Pro Gly Ala Thr Gly Arg Lys Cys Asp Gly
1520 1525 1530

Cys Glu His Trp His Ala Arg Glu Gly Ala Glu Cys Val Phe Cys
1535 1540 1545

Gly Asp Glu Cys Thr Gly Leu Leu Leu Gly Asp Leu Ala Arg Leu
1550 1555 1560

Glu Gln Met Thr Met Asn Ile Asn Leu Thr Gly Pro Leu Pro Ala
1565 1570 1575

Pro Tyr Lys Ile Leu Tyr Gly Leu Glu Asn Thr Thr Gln Glu Leu
1580 1585 1590

Lys His Leu Leu Ser Pro Gln Arg Ala Pro Glu Arg Leu Ile Gln
1595 1600 1605

Leu Ala Glu Gly Asn Val Asn Thr Leu Val Met Glu Thr Asn Glu
1610 1615 1620

Leu Leu Thr Arg Ala Thr Lys Val Thr Ala Asp Gly Glu Gln Thr
1625 1630 1635

Gly Gln Asp Ala Glu Arg Thr Asn Ser Arg Ala Glu Ser Leu Glu
1640 1645 1650

Glu Phe Ile Lys Gly Leu Val Gln Asp Ala Glu Ala Ile Asn Glu
1655 1660 1665

Lys Ala Val Lys Leu Asn Glu Thr Leu Gly Asn Gln Asp Lys Thr
1670 1675 1680

Ala Glu Arg Asn Leu Glu Glu Leu Gln Lys Glu Ile Asp Arg Met
1685 1690 1695

Leu Lys Glu Leu Arg Ser Lys Asp Leu Gln Thr Gln Lys Glu Val
1700 1705 1710

Ala Glu Asp Glu Leu Val Ala Ala Glu Gly Leu Leu Lys Arg Val
1715 1720 1725

Asn Lys Leu Phe Gly Glu Pro Arg Ala Gln Asn Glu Asp Met Glu
1730 1735 1740

Lys Asp Leu Gln Gln Lys Leu Ala Glu Tyr Lys Asn Lys Leu Asp
1745 1750 1755

Asp Ala Trp Asp Leu Leu Arg Glu Ala Thr Asp Lys Thr Arg Asp
1760 1765 1770

Ala Asn Arg Leu Ser Ala Ala Asn Gln Lys Asn Met Thr Ile Leu
1775 1780 1785

Glu Thr Lys Lys Glu Ala Ile Glu Gly Ser Lys Arg Gln Ile Glu
1790 1795 1800

Asn Thr Leu Lys Glu Gly Asn Asp Ile Leu Asp Glu Ala Asn Gln
1805 1810 1815

Leu Leu Gly Glu Ile Asn Ser Val Ile Asp Tyr Val Asp Asp Ile
1820 1825 1830

Lys Thr Lys Leu Pro Pro Met Ser Glu Glu Leu Ser Asp Lys Ile
1835 1840 1845

Asp Asp Leu Ala Gln Glu Ile Lys Asp Arg Arg Leu Ala Glu Lys
1850 1855 1860

Val Phe Gln Ala Glu Ser His Ala Ala Gln Leu Asn Asp Ser Ser
1865 1870 1875

Ala Val Leu Asp Gly Ile Leu Asp Glu Ala Lys Asn Ile Ser Phe
1880 1885 1890

Asn Ala Thr Ala Ala Phe Arg Ala Tyr Ser Asn Ile Lys Asp Tyr
1895 1900 1905

Ile Asp Glu Ala Glu Lys Val Ala Arg Glu Ala Lys Glu Leu Ala
1910 1915 1920

Gln Gly Ala Thr Lys Leu Ala Thr Ser Pro Gln Gly Leu Leu Lys
1925 1930 1935

Glu Asp Ala Lys Gly Ser Leu Gln Lys Ser Phe Arg Ile Leu Asn
1940 1945 1950

Glu Ala Lys Lys Leu Ala Asn Asp Val Lys Gly Asn His Asn Asp
1955 1960 1965

Leu Asn Asp Leu Lys Thr Arg Leu Glu Thr Ala Asp Leu Arg Asn
1970 1975 1980

Ser Gly Leu Leu Gly Ala Leu Asn Asp Thr Met Asp Lys Leu Ser
1985 1990 1995

Ala Ile Thr Asn Asp Thr Ala Ala Lys Leu Gln Ala Val Lys Glu
2000 2005 2010

Lys Ala Arg Glu Ala Asn Asp Thr Ala Lys Ala Val Leu Ala Gln
2015 2020 2025

Val Lys Asp Leu His Gln Asn Leu Asp Gly Leu Lys Gln Asn Tyr
2030 2035 2040

Asn Lys Leu Ala Asp Ser Val Ala Lys Thr Asn Ala Val Val Lys
2045 2050 2055

Asp Pro Ser Lys Asn Lys Ile Ile Ala Asp Ala Gly Thr Ser Val
2060 2065 2070

Arg Asn Leu Glu Gln Glu Ala Asp Arg Leu Ile Asp Lys Leu Lys
2075 2080 2085

Pro Ile Lys Glu Leu Glu Asp Asn Leu Lys Lys Asn Ile Ser Glu
2090 2095 2100

Ile Lys Glu Leu Ile Asn Gln Ala Arg Lys Gln Ala Asn Ser Ile
2105 2110 2115

Lys Val Ser Val Ser Ser Gly Gly Asp Cys Val Arg Thr Tyr Arg
2120 2125 2130

Pro Glu Ile Lys Lys Gly Ser Tyr Asn Asn Ile Val Val His Val
2135 2140 2145

Lys Thr Ala Val Ala Asp Asn Leu Leu Phe Tyr Leu Gly Ser Ala
2150 2155 2160

Lys Phe Ile Asp Phe Leu Ala Ile Glu Met Arg Lys Gly Lys Val
2165 2170 2175

Ser Phe Leu Trp Ile Val Gly Ser Gly Val Gly Arg Val Gly Phe
2180 2185 2190

Pro Asp Leu Thr Ile Asp Asp Ser Tyr Trp Tyr Arg Ile Glu Ala
2195 2200 2205

Ser Arg Thr Gly Arg Asn Gly Ser Ile Ser Val Arg Ala Leu Asp
2210 2215 2220

Gly Pro Lys Ala Ser Met Val Pro Ser Thr Tyr His Ser Val Ser
2225 2230 2235

Pro Pro Gly Tyr Thr Ile Leu Asp Val Asp Ala Asn Ala Met Leu
2240 2245 2250

Phe Val Gly Gly Leu Thr Gly Lys Ile Lys Lys Ala Asp Ala Val
2255 2260 2265

Arg Val Ile Thr Phe Thr Gly Cys Met Gly Glu Thr Tyr Phe Asp
2270 2275 2280

Asn Lys Pro Ile Gly Leu Trp Asn Phe Arg Glu Lys Glu Gly Asp
2285 2290 2295

Cys Lys Gly Cys Thr Val Ser Pro Gln Val Glu Asp Ser Glu Gly
2300 2305 2310

Thr Ile Gln Phe Asp Gly Glu Gly Tyr Ala Leu Val Ser Arg Pro
2315 2320 2325

Ile Arg Trp Tyr Pro Asn Ile Ser Thr Val Met Phe Lys Phe Arg
2330 2335 2340

Thr Phe Ser Ser Ser Ala Leu Leu Met Tyr Leu Ala Thr Arg Asp
2345 2350 2355

Leu Lys Asp Phe Met Ser Val Glu Leu Ser Asp Gly His Val Lys
2360 2365 2370

Val Ser Tyr Asp Leu Gly Ser Gly Met Thr Ser Val Val Ser Asn
2375 2380 2385

Gln Asn His Asn Asp Gly Lys Trp Lys Ala Phe Thr Leu Ser Arg
2390 2395 2400

Ile Gln Lys Gln Ala Asn Ile Ser Ile Val Asp Ile Asp Ser Asn
2405 2410 2415

Gln Glu Glu Asn Val Ala Thr Ser Ser Ser Gly Asn Asn Phe Gly
2420 2425 2430

Leu Asp Leu Lys Ala Asp Asp Lys Ile Tyr Phe Gly Gly Leu Pro
2435 2440 2445

Thr Leu Arg Asn Leu Ser Met Lys Ala Arg Pro Glu Val Asn Val
2450 2455 2460

Lys Lys Tyr Ser Gly Cys Leu Lys Asp Ile Glu Ile Ser Arg Thr
2465 2470 2475

Pro Tyr Asn Ile Leu Ser Ser Pro Asp Tyr Val Gly Val Thr Lys
2480 2485 2490

Gly Cys Ser Leu Glu Asn Val Asn Thr Val Ser Phe Pro Lys Pro
2495 2500 2505

Gly Phe Val Glu Leu Ala Ala Val Ser Ile Asp Val Gly Thr Glu
2510 2515 2520

Ile Asn Leu Ser Phe Ser Thr Arg Asn Glu Ser Gly Ile Ile Leu
2525 2530 2535

Leu Gly Ser Gly Gly Thr Leu Thr Pro Pro Arg Arg Lys Arg Arg
2540 2545 2550

Gln Thr Thr Gln Ala Tyr Tyr Ala Ile Phe Leu Asn Lys Gly Arg
2555 2560 2565

Leu Glu Val His Leu Ser Ser Gly Thr Arg Thr Met Arg Lys Ile
2570 2575 2580

Val Ile Lys Pro Glu Pro Asn Leu Phe His Asp Gly Arg Glu His
2585 2590 2595

Ser Val His Val Glu Arg Thr Arg Gly Ile Phe Thr Val Gln Ile
2600 2605 2610

Asp Glu Asp Arg Arg His Ile Gln Asn Leu Thr Glu Glu Gln Pro
2615 2620 2625

Ile Glu Val Lys Lys Leu Phe Val Gly Gly Ala Pro Pro Glu Phe
2630 2635 2640

Gln Pro Ser Pro Leu Arg Asn Ile Pro Ala Phe Gln Gly Cys Val
2645 2650 2655

Trp Asn Leu Val Ile Asn Ser Ile Pro Met Asp Phe Ala Gln Pro
2660 2665 2670

Ile Ala Phe Lys Asn Ala Asp Ile Gly Arg Cys Thr Tyr Gln Lys
2675 2680 2685

Pro Arg Glu Asp Glu Ser Glu Ala Val Pro Ala Glu Val Ile Val
2690 2695 2700

Gln Pro Gln Ser Val Pro Thr Pro Ala Phe Pro Phe Pro Val Pro
2705 2710 2715

Thr Met Val His Gly Pro Cys Val Ala Glu Ser Glu Pro Ala Leu
2720 2725 2730

Leu Thr Gly Ser Lys Gln Phe Gly Leu Ser Arg Asn Ser His Ile
2735 2740 2745

Ala Ile Val Phe Asp Asp Thr Lys Val Lys Asn Arg Leu Thr Ile
2750 2755 2760

Glu Leu Glu Val Arg Thr Glu Ala Glu Ser Gly Leu Leu Phe Tyr
2765 2770 2775

Met Gly Arg Ile Asn His Ala Asp Phe Gly Thr Val Gln Leu Arg
2780 2785 2790

Asn Gly Phe Pro Phe Phe Ser Tyr Asp Leu Gly Ser Gly Ser Thr
2795 2800 2805

Arg Thr Met Ile Pro Thr Lys Ile Asn Asp Gly Gln Trp His Lys
2810 2815 2820

Ile Lys Ile Val Arg Val Lys Gln Glu Gly Ile Leu Tyr Val Asp
2825 2830 2835

Asp Ala Ser Ser Gln Thr Ile Ser Pro Lys Lys Ala Asp Ile Leu
2840 2845 2850

Asp Val Gly Gly Ile Leu Tyr Val Gly Gly Leu Pro Ile Asn Tyr
2855 2860 2865

Thr Thr Arg Arg Ile Gly Pro Val Thr Tyr Ser Leu Asp Gly Cys
2870 2875 2880

Val Arg Asn Leu His Met Glu Gln Ala Pro Val Asp Leu Asp Gln
2885 2890 2895

Pro Thr Ser Ser Phe His Val Gly Thr Cys Phe Ala Asn Ala Glu
2900 2905 2910

Ser Gly Thr Tyr Phe Asp Gly Thr Gly Phe Gly Lys Ala Val Gly
2915 2920 2925

Gly Phe Ile Val Gly Leu Asp Leu Leu Val Glu Phe Glu Phe Arg
2930 2935 2940

Thr Thr Arg Pro Thr Gly Val Leu Leu Gly Ile Ser Ser Gln Lys
2945 2950 2955

Met Asp Gly Met Gly Ile Glu Met Ile Asp Glu Lys Leu Met Phe
2960 2965 2970

His Val Asp Asn Gly Ala Gly Arg Phe Thr Ala Ile Tyr Asp Ala
2975 2980 2985

Glu Ile Pro Gly His Met Cys Asn Gly Gln Trp Tyr Lys Val Thr
2990 2995 3000

Ala Lys Lys Ile Lys Asn Arg Leu Glu Leu Val Val Asp Gly Asn
3005 3010 3015

Gln Val Asp Ala Gln Ser Pro Asn Ser Ala Ser Thr Ser Ala Asp
3020 3025 3030

Thr Asn Asp Pro Val Phe Val Gly Gly Phe Pro Gly Gly Leu Asn
3035 3040 3045

Gln Phe Gly Leu Thr Thr Asn Ile Arg Phe Arg Gly Cys Ile Arg
3050 3055 3060

Ser Leu Lys Leu Thr Lys Gly Thr Ala Asn Arg Trp Arg Leu Ile
 3065 3070 3075

Leu Pro Arg Pro Trp Asn
 3080

<210> 7
 <211> 5583
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (42)..(5441)
 <223> laminin, beta 2

<400> 7
 ccacgcgtcc gggacaccag cccagtaccc acacggtcgg g atg gag tgg gcc tca 56
 Met Glu Trp Ala Ser
 1 5
 gga gaa cca ggg agg ggc agg cag gga cag cct ttg cca tgg gaa ctt 104
 Gly Glu Pro Gly Arg Gly Arg Gln Gly Gln Pro Leu Pro Trp Glu Leu
 10 15 20
 cgc ttg ggc ota ctt ota agt gtg ctg gct gcc aca ttg gcc cag gcc 152
 Arg Leu Gly Leu Leu Leu Ser Val Leu Ala Ala Thr Leu Ala Gln Ala
 25 30 35
 ccg tcc ttg gat gta cct ggc tgt tct cga gga agc tgc tat cca gcc 200
 Pro Ser Leu Asp Val Pro Gly Cys Ser Arg Gly Ser Cys Tyr Pro Ala
 40 45 50

acc ggt gac ctg ttg gtg ggc cgt gcg gac aga ctg acg gcc tca tcc	248
Thr Gly Asp Leu Leu Val Gly Arg Ala Asp Arg Leu Thr Ala Ser Ser	
55 60 65	
acg tgt ggc ttg cat agc cct caa ccc tac tgt att gtc agt cac ctg	296
Thr Cys Gly Leu His Ser Pro Gln Pro Tyr Cys Ile Val Ser His Leu	
70 75 80 85	
cag gac gaa aag aag tgt ttc ctg tgt gac tcc cga cgt ccc ttc tct	344
Gln Asp Glu Lys Lys Cys Phe Leu Cys Asp Ser Arg Arg Pro Phe Ser	
90 95 100	
gct cga gac aac cca aat agt cat cgg atc cag aat gta gtc acc agc	392
Ala Arg Asp Asn Pro Asn Ser His Arg Ile Gln Asn Val Val Thr Ser	
105 110 115	
ttt gcg cca caa cgc cgg acg gcc tgg tgg caa tcg gag aac ggg gtt	440
Phe Ala Pro Gln Arg Arg Thr Ala Trp Trp Gln Ser Glu Asn Gly Val	
120 125 130	
cca atg gtc acc atc caa ctg gac ctg gaa gct gag ttt cat ttc acc	488
Pro Met Val Thr Ile Gln Leu Asp Leu Glu Ala Glu Phe His Phe Thr	
135 140 145	
cac ctc att atg acg ttc aag acg ttc cgg cct gct gct atg ctg gtg	536
His Leu Ile Met Thr Phe Lys Thr Phe Arg Pro Ala Ala Met Leu Val	
150 155 160 165	
gag cgt tct gca gac ttt ggc cgc acc tgg cac gtg tac cga tat ttt	584
Glu Arg Ser Ala Asp Phe Gly Arg Thr Trp His Val Tyr Arg Tyr Phe	
170 175 180	
tcc tat gac tgc ggg got gac ttc ccg gga atc cca ctg gcc ccg cca	632
Ser Tyr Asp Cys Gly Ala Asp Phe Pro Gly Ile Pro Leu Ala Pro Pro	
185 190 195	

cgt cgc tgg gat gat gta gtg tgt gag tcc cgc tac tca gaa atc gag	680
Arg Arg Trp Asp Asp Val Val Cys Glu Ser Arg Tyr Ser Glu Ile Glu	
200 205 210	
cgg tct acg gaa ggc gag gtc atc tat cgt gtg ctg gac cct gct att	728
Pro Ser Thr Glu Gly Glu Val Ile Tyr Arg Val Leu Asp Pro Ala Ile	
215 220 225	
cct atc cca gac ccc tac agc tca cgg att cag aac ctg ttg aag atc	776
Pro Ile Pro Asp Pro Tyr Ser Ser Arg Ile Gln Asn Leu Leu Lys Ile	
230 235 240 245	
acc aac cta cga gtg aac tta acc cgg ctt cac aca ctg gga gac aac	824
Thr Asn Leu Arg Val Asn Leu Thr Arg Leu His Thr Leu Gly Asp Asn	
250 255 260	
ttg ctt gac cca cgg agg gag atc cgg gaa aaa tac tat tat gct ctc	872
Leu Leu Asp Pro Arg Arg Glu Ile Arg Glu Lys Tyr Tyr Tyr Ala Leu	
265 270 275	
tat gaa ctt gtc atc cgt ggc aac tgc ttc tgc tat ggc cac gcc tca	920
Tyr Glu Leu Val Ile Arg Gly Asn Cys Phe Cys Tyr Gly His Ala Ser	
280 285 290	
cag tgt gcg cct gca cca ggg gcg ccg gcc cat gct gag ggc atg gta	968
Gln Cys Ala Pro Ala Pro Gly Ala Pro Ala His Ala Glu Gly Met Val	
295 300 305	
cac gga gcc tgt atc tgc aag cac aat act cgt gga ctc aac tgt gag	1016
His Gly Ala Cys Ile Cys Lys His Asn Thr Arg Gly Leu Asn Cys Glu	
310 315 320 325	
cag tgt cag gat ttc tat cag gac ctt ccc tgg cac cct gca gag gac	1064
Gln Cys Gln Asp Phe Tyr Gln Asp Leu Pro Trp His Pro Ala Glu Asp	
330 335 340	

ggc cat act cac gcc tgt cgg aag tgt gag tgc aac ggg cat act cat	1112
Gly His Thr His Ala Cys Arg Lys Cys Glu Cys Asn Gly His Thr His	
345 350 355	
agc tgc cac ttt gac atg gct gtc tac ctg gca tct gga aat gta agt	1160
Ser Cys His Phe Asp Met Ala Val Tyr Leu Ala Ser Gly Asn Val Ser	
360 365 370	
gga ggc gta tgc gat ggg tgt cag cac aac aca gct ggg cgc cat tgt	1208
Gly Gly Val Cys Asp Gly Cys Gln His Asn Thr Ala Gly Arg His Cys	
375 380 385	
gag ttc tgc cgg ccc ttc ttc tac cgt gac ccc acc aag gac atg cgg	1256
Glu Phe Cys Arg Pro Phe Phe Tyr Arg Asp Pro Thr Lys Asp Met Arg	
390 395 400 405	
gac cca gct gtg tgc cgt cct tgt gac tgt gac cct atg ggt tct caa	1304
Asp Pro Ala Val Cys Arg Pro Cys Asp Cys Asp Pro Met Gly Ser Gln	
410 415 420	
gat ggt ggt cgc tgt gat tct cat gat gac cct gtg cta gga ctg gtc	1352
Asp Gly Gly Arg Cys Asp Ser His Asp Asp Pro Val Leu Gly Leu Val	
425 430 435	
tca ggc cag tgt cgc tgc aaa gaa cac gtg gtt ggc act cgc tgc cag	1400
Ser Gly Gln Cys Arg Cys Lys Glu His Val Val Gly Thr Arg Cys Gln	
440 445 450	
caa tgc cgt gat ggc ttc ttt gga ctt agt gcc agt gac cct cga ggg	1448
Gln Cys Arg Asp Gly Phe Phe Gly Leu Ser Ala Ser Asp Pro Arg Gly	
455 460 465	
tgc cag cgt tgc cag tgt aat tca cgg ggc aca gtg cct ggg agc tcc	1496
Cys Gln Arg Cys Gln Cys Asn Ser Arg Gly Thr Val Pro Gly Ser Ser	
470 475 480 485	

cct tgt gac tcc agt agt gga acc tgt ttc tgc aag cgt ctg gtg acc	1544
Pro Cys Asp Ser Ser Ser Gly Thr Cys Phe Cys Lys Arg Leu Val Thr	
490 495 500	
gga cat ggc tgt gac cgc tgt ctg cct ggc cac tgg ggc ctg agc cat	1592
Gly His Gly Cys Asp Arg Cys Leu Pro Gly His Trp Gly Leu Ser His	
505 510 515	
gac ctg ctg ggc tgc cgt ccc tgt gac tgt gat gtg ggc ggt gcc ttg	1640
Asp Leu Leu Gly Cys Arg Pro Cys Asp Cys Asp Val Gly Gly Ala Leu	
520 525 530	
gat cct cag tgt gat gag gcc acc ggt cag tgc cgc tgc cgc caa cac	1688
Asp Pro Gln Cys Asp Glu Ala Thr Gly Gln Cys Arg Cys Arg Gln His	
535 540 545	
atg att ggg cgg cgc tgc gaa caa gtg cag cct ggc tac ttc cgg cct	1736
Met Ile Gly Arg Arg Cys Glu Gln Val Gln Pro Gly Tyr Phe Arg Pro	
550 555 560 565	
ttt ctg gac cat tta acc tgg gag gct gag gct gcc caa ggg cag ggg	1784
Phe Leu Asp His Leu Thr Trp Glu Ala Glu Ala Ala Gln Gly Gln Gly	
570 575 580	
ctt gag gtg gta gag cgg ctg gtg acc aac cga gag act ccg tcc tgg	1832
Leu Glu Val Val Glu Arg Leu Val Thr Asn Arg Glu Thr Pro Ser Trp	
585 590 595	
act ggc cca ggc ttt gtg cgg ctg cga gaa ggt cag gaa gtg gag ttc	1880
Thr Gly Pro Gly Phe Val Arg Leu Arg Glu Gly Gln Glu Val Glu Phe	
600 605 610	
ctg gtg acc tct ttg cct agg gcc atg gac tat gac ctg cta ctg cgc	1928
Leu Val Thr Ser Leu Pro Arg Ala Met Asp Tyr Asp Leu Leu Leu Arg	
615 620 625	

tgg gag ccc cag gtc cct gag caa tgg gca gag ctg gaa ctg atg gtg	1976
Trp Glu Pro Gln Val Pro Glu Gln Trp Ala Glu Leu Glu Leu Met Val	
630 635 640 645	
cag cgt ccg ggg cct gtg tct gct cac agt ccg tgc ggg cat gtg ctg	2024
Gln Arg Pro Gly Pro Val Ser Ala His Ser Pro Cys Gly His Val Leu	
650 655 660	
cct aag gat gac cgc att cag ggg atg ctt cac cca aac acc agg ttt	2072
Pro Lys Asp Asp Arg Ile Gln Gly Met Leu His Pro Asn Thr Arg Phe	
665 670 675	
ttg gtg ttt ccc aga cct gtc tgc ctt gag cct ggc atc tcc tac aag	2120
Leu Val Phe Pro Arg Pro Val Cys Leu Glu Pro Gly Ile Ser Tyr Lys	
680 685 690	
ctg aag ctg aaa ctg atc gga aca ggg gga cga gcc cag cct gaa acc	2168
Leu Lys Leu Lys Leu Ile Gly Thr Gly Gly Arg Ala Gln Pro Glu Thr	
695 700 705	
tcc tac tct gga tta ctc att gac tcg ctg gtc ctg cag ccc cac gtc	2216
Ser Tyr Ser Gly Leu Leu Ile Asp Ser Leu Val Leu Gln Pro His Val	
710 715 720 725	
ttg gtg cta gag atg ttt agt ggg ggc gat gct gct gct ctg gag cgc	2264
Leu Val Leu Glu Met Phe Ser Gly Gly Asp Ala Ala Ala Leu Glu Arg	
730 735 740	
cgt acc acc ttt gaa cgc tac cgc tgc cat gag gaa ggt ctg atg ccc	2312
Arg Thr Thr Phe Glu Arg Tyr Arg Cys His Glu Glu Gly Leu Met Pro	
745 750 755	
ago aag gcc cct cta tct gag acc tgt gcc ccc ctc ctc atc ago gtg	2360
Ser Lys Ala Pro Leu Ser Glu Thr Cys Ala Pro Leu Leu Ile Ser Val	
760 765 770	

tcc gcc ttg atc tac aat ggc gcc ttg cca tgt cag tgt gac cct caa	2408
Ser Ala Leu Ile Tyr Asn Gly Ala Leu Pro Cys Gln Cys Asp Pro Gln	
775 780 785	
ggc tca ctg agt tct gaa tgc agt cct cac ggt ggc cag tgc cgg tgc	2456
Gly Ser Leu Ser Ser Glu Cys Ser Pro His Gly Gly Gln Cys Arg Cys	
790 795 800 805	
aaa cct gga gtg gtt gga cgc cgt tgt gat gtc tgt gct act ggc tac	2504
Lys Pro Gly Val Val Gly Arg Arg Cys Asp Val Cys Ala Thr Gly Tyr	
810 815 820	
tat ggc ttt ggc cct gca ggc tgt caa gcc tgc cag tgt agt cct gat	2552
Tyr Gly Phe Gly Pro Ala Gly Cys Gln Ala Cys Gln Cys Ser Pro Asp	
825 830 835	
gga gca ctc agt gcc ctc tgt gaa ggg act agt gga cag tgc ccc tgc	2600
Gly Ala Leu Ser Ala Leu Cys Glu Gly Thr Ser Gly Gln Cys Pro Cys	
840 845 850	
cga cct ggt gcc ttt ggt ctt cgc tgt gac cac tgt caa cgt ggc cag	2648
Arg Pro Gly Ala Phe Gly Leu Arg Cys Asp His Cys Gln Arg Gly Gln	
855 860 865	
tgg gga ttc cct aat tgc cgg ccg tgt gtc tgc aat ggg cgt gcg gat	2696
Trp Gly Phe Pro Asn Cys Arg Pro Cys Val Cys Asn Gly Arg Ala Asp	
870 875 880 885	
gag tgt gat acc cac aca ggc gct tgc ctg ggc tgc cgt gat tac acg	2744
Glu Cys Asp Thr His Thr Gly Ala Cys Leu Gly Cys Arg Asp Tyr Thr	
890 895 900	
ggg ggc gag cac tgt gaa agg tgc att gct ggt ttt cat ggg gac cca	2792
Gly Gly Glu His Cys Glu Arg Cys Ile Ala Gly Phe His Gly Asp Pro	
905 910 915	

egg ctg cca tat ggg ggc cag tgc cgg cct tgt ccc tgc cct gaa ggc	2840
Arg Leu Pro Tyr Gly Gly Gln Cys Arg Pro Cys Pro Cys Pro Glu Gly	
920 925 930	
cct ggg agc cag cga cac ttt gct act tct tgc cac cgg gat gga tat	2888
Pro Gly Ser Gln Arg His Phe Ala Thr Ser Cys His Arg Asp Gly Tyr	
935 940 945	
tcc cag caa att gtg tgc cag tgt cga gaa ggc tac aca ggg ott cgg	2936
Ser Gln Gln Ile Val Cys Gln Cys Arg Glu Gly Tyr Thr Gly Leu Arg	
950 955 960 965	
tgt gaa gct tgt gcc ccc ggg cac ttt ggg gac cca tca aag cca ggt	2984
Cys Glu Ala Cys Ala Pro Gly His Phe Gly Asp Pro Ser Lys Pro Gly	
970 975 980	
ggc agg tgc caa ctg tgt gag tgc agt gga aac att gat ccc atg gac	3032
Gly Arg Cys Gln Leu Cys Glu Cys Ser Gly Asn Ile Asp Pro Met Asp	
985 990 995	
cct gat gcc tgt gat ccc cac acg ggg caa tgc ttg cgt tgt tta	3077
Pro Asp Ala Cys Asp Pro His Thr Gly Gln Cys Leu Arg Cys Leu	
1000 1005 1010	
cac aac aca gag ggg ccc cac tgt ggc tat tgc aag cct ggc ttc	3122
His Asn Thr Glu Gly Pro His Cys Gly Tyr Cys Lys Pro Gly Phe	
1015 1020 1025	
cat ggg caa gct gcc cga cag agc tgt cac cgc tgt acc tgc aac	3167
His Gly Gln Ala Ala Arg Gln Ser Cys His Arg Cys Thr Cys Asn	
1030 1035 1040	
ctt ctg ggc aca gat ccc agg cgg tgc cca tct acc gac ctg tgc	3212
Leu Leu Gly Thr Asp Pro Arg Arg Cys Pro Ser Thr Asp Leu Cys	
1045 1050 1055	

cat tgt gac	cca agc act ggg cag	tgc cca tgc ctt ccc	cat gtc	3257
His Cys Asp	Pro Ser Thr Gly Gln	Cys Pro Cys Leu Pro	His Val	
1060	1065	1070		
caa ggc ctc	aac tgt gac cat tgt	gcc ccc aac ttt tgg	aac ttc	3302
Gln Gly Leu	Asn Cys Asp His Cys	Ala Pro Asn Phe Trp	Asn Phe	
1075	1080	1085		
acc agt ggc	cgt ggc tgc cag cct	tgt gct tgt cac cca	agc cgg	3347
Thr Ser Gly	Arg Gly Cys Gln Pro	Cys Ala Cys His Pro	Ser Arg	
1090	1095	1100		
gcc aga ggc	cct acc tgc aat gag	ttc aca ggg cag tgt	cac tgt	3392
Ala Arg Gly	Pro Thr Cys Asn Glu	Phe Thr Gly Gln Cys	His Cys	
1105	1110	1115		
cat gct ggc	ttt ggt ggg agg act	tgt tct gag tgc caa	gag ctc	3437
His Ala Gly	Phe Gly Gly Arg Thr	Cys Ser Glu Cys Gln	Glu Leu	
1120	1125	1130		
tac tgg gga	gac cct ggt ctg cag	tgc cgt gcc tgt gac	tgt gat	3482
Tyr Trp Gly	Asp Pro Gly Leu Gln	Cys Arg Ala Cys Asp	Cys Asp	
1135	1140	1145		
cct aga gga	ata gac aaa cct cag	tgt cat cgt tcc aca	ggc cac	3527
Pro Arg Gly	Ile Asp Lys Pro Gln	Cys His Arg Ser Thr	Gly His	
1150	1155	1160		
tgt agc tgc	cgc cca ggc gtg tct	ggc gtg cgc tgt gac	cag tgt	3572
Cys Ser Cys	Arg Pro Gly Val Ser	Gly Val Arg Cys Asp	Gln Cys	
1165	1170	1175		
gct cgt ggc	ttc tca ggg gtt ttt	cct gct tgt cac ccc	tgc cac	3617
Ala Arg Gly	Phe Ser Gly Val Phe	Pro Ala Cys His Pro	Cys His	
1180	1185	1190		

gct tgc ttt	gga gac tgg gat cgt	gtg gta cag gac ctg	gct gct	3662
Ala Cys Phe	Gly Asp Trp Asp Arg	Val Val Gln Asp Leu	Ala Ala	
1195	1200	1205		
cgg acg cgg	cgc ctg gag cag tgg	gct cag gag ttg cag	caa aca	3707
Arg Thr Arg	Arg Leu Glu Gln Trp	Ala Gln Glu Leu Gln	Gln Thr	
1210	1215	1220		
gga gtg ctg	ggt gcc ttt gag agc	agc ttt ttg aac atg	cag ggg	3752
Gly Val Leu	Gly Ala Phe Glu Ser	Ser Phe Leu Asn Met	Gln Gly	
1225	1230	1235		
aag cta ggc	atg gtg cag gcc att	atg agt gcc cgc aat	gcc tca	3797
Lys Leu Gly	Met Val Gln Ala Ile	Met Ser Ala Arg Asn	Ala Ser	
1240	1245	1250		
gcc gcc tct	acg gcg aag ctt gta	gag gcc aca gag gga	cta cgt	3842
Ala Ala Ser	Thr Ala Lys Leu Val	Glu Ala Thr Glu Gly	Leu Arg	
1255	1260	1265		
cat gaa atc	ggg aag acc acc gag	cgc ctg act cag tta	gaa gca	3887
His Glu Ile	Gly Lys Thr Thr Glu	Arg Leu Thr Gln Leu	Glu Ala	
1270	1275	1280		
gag cta aca	gct gtg cag gat gag	aac ttc aat gcc aac	cat gca	3932
Glu Leu Thr	Ala Val Gln Asp Glu	Asn Phe Asn Ala Asn	His Ala	
1285	1290	1295		
ctc agt ggt	ctg gag aga gac ggg	ctt gcg ctt aat ctc	acc ctg	3977
Leu Ser Gly	Leu Glu Arg Asp Gly	Leu Ala Leu Asn Leu	Thr Leu	
1300	1305	1310		
agg cag ctg	gat cag cat ctg gag	atc ctc aaa cat tca	aat ttc	4022
Arg Gln Leu	Asp Gln His Leu Glu	Ile Leu Lys His Ser	Asn Phe	
1315	1320	1325		

tta ggt gcc	tat gac agc atc cga	cat gcc cac agc cag	tcc aca	4067
Leu Gly Ala	Tyr Asp Ser Ile Arg	His Ala His Ser Gln	Ser Thr	
1330	1335	1340		
gag gca gag	cgc cgt gcc aac gcc	tcc acc ttt gca gta	ccc agc	4112
Glu Ala Glu	Arg Arg Ala Asn Ala	Ser Thr Phe Ala Val	Pro Ser	
1345	1350	1355		
cct gtg agc	aac tca gca gat acc	cgg cgt cgg acg gaa	gtg cta	4157
Pro Val Ser	Asn Ser Ala Asp Thr	Arg Arg Arg Thr Glu	Val Leu	
1360	1365	1370		
atg ggt gcc	caa aaa gaa aac ttc	aac cgc caa cat ttg	gcc aac	4202
Met Gly Ala	Gln Lys Glu Asn Phe	Asn Arg Gln His Leu	Ala Asn	
1375	1380	1385		
cag cag gca	ctg gga cgg ctc tct	gca cat gcc cac acc	ctg agc	4247
Gln Gln Ala	Leu Gly Arg Leu Ser	Ala His Ala His Thr	Leu Ser	
1390	1395	1400		
ctg acg ggc	ata aat gag ttg gtg	tgt ggg gca cca ggg	gac gca	4292
Leu Thr Gly	Ile Asn Glu Leu Val	Cys Gly Ala Pro Gly	Asp Ala	
1405	1410	1415		
ccc tgt gcc	acc agc cct tgt ggg	ggg gcc gga tgt cgg	gat gaa	4337
Pro Cys Ala	Thr Ser Pro Cys Gly	Gly Ala Gly Cys Arg	Asp Glu	
1420	1425	1430		
gat ggg cag	ccc cgt tgt ggt ggc	ctc ggt tgc agt ggg	gca gca	4382
Asp Gly Gln	Pro Arg Cys Gly Gly	Leu Gly Cys Ser Gly	Ala Ala	
1435	1440	1445		
gcc acg gca	gat cta gcg ctg ggc	cgg gct cgg cac acg	cag gca	4427
Ala Thr Ala	Asp Leu Ala Leu Gly	Arg Ala Arg His Thr	Gln Ala	
1450	1455	1460		

gag ctg cag	cgg gca ctg gta gaa	ggt ggc ggc atc ctc	agc cgg	4472
Glu Leu Gln	Arg Ala Leu Val Glu	Gly Gly Gly Ile Leu	Ser Arg	
1465	1470	1475		
gtg tct gag	act cgt cgg cag gca	gaa gag gca cag cag	cga gca	4517
Val Ser Glu	Thr Arg Arg Gln Ala	Glu Glu Ala Gln Gln	Arg Ala	
1480	1485	1490		
cag gca gcc	ctg gac aag gct aat	gct tcc agg ggc cag	gtg gaa	4562
Gln Ala Ala	Leu Asp Lys Ala Asn	Ala Ser Arg Gly Gln	Val Glu	
1495	1500	1505		
cag gcc aat	cag gag ctt cga gaa	ctt atc cag aat gtg	aaa gac	4607
Gln Ala Asn	Gln Glu Leu Arg Glu	Leu Ile Gln Asn Val	Lys Asp	
1510	1515	1520		
ttc ctc ago	cag gag gga gcc gat	cct gac agt att gaa	atg gta	4652
Phe Leu Ser	Gln Glu Gly Ala Asp	Pro Asp Ser Ile Glu	Met Val	
1525	1530	1535		
gcg act cgg	gtg cta gac atc tcc	atc ccg gcc tca ccc	gag cag	4697
Ala Thr Arg	Val Leu Asp Ile Ser	Ile Pro Ala Ser Pro	Glu Gln	
1540	1545	1550		
atc cag cgc	cta gcc agt gag att	gca gaa cgc gtc cga	agc ctg	4742
Ile Gln Arg	Leu Ala Ser Glu Ile	Ala Glu Arg Val Arg	Ser Leu	
1555	1560	1565		
gcc gac gtg	gac aca atc ctg gcc	cat acc atg ggc gac	gtg cgt	4787
Ala Asp Val	Asp Thr Ile Leu Ala	His Thr Met Gly Asp	Val Arg	
1570	1575	1580		
cgg gct gaa	cag cta ctg caa gat	gcg cac cgg gca cgg	agc cgg	4832
Arg Ala Glu	Gln Leu Leu Gln Asp	Ala His Arg Ala Arg	Ser Arg	
1585	1590	1595		

gcc gag ggt	gag aga cag aag gca	gag aca gtc caa gcg	gca ctg	4877
Ala Glu Gly	Glu Arg Gln Lys Ala	Glu Thr Val Gln Ala	Ala Leu	
1600	1605	1610		
gag gag gct	cag agg gca caa gga	gct gct cag ggt gcc	atc tgg	4922
Glu Glu Ala	Gln Arg Ala Gln Gly	Ala Ala Gln Gly Ala	Ile Trp	
1615	1620	1625		
gga gca gtg	gtt gac aca caa aac	aca gag cag acc ctg	cag cgg	4967
Gly Ala Val	Val Asp Thr Gln Asn	Thr Glu Gln Thr Leu	Gln Arg	
1630	1635	1640		
gtc cag gag	agg atg gca ggt gca	gag aag tct ctg aac	tct gcc	5012
Val Gln Glu	Arg Met Ala Gly Ala	Glu Lys Ser Leu Asn	Ser Ala	
1645	1650	1655		
ggt gag cgg	gct cgg caa tta gac	gcc ctc ctg gag gcc	ctg aaa	5057
Gly Glu Arg	Ala Arg Gln Leu Asp	Ala Leu Leu Glu Ala	Leu Lys	
1660	1665	1670		
ctg aaa cgg	gca gga aat agc ctg	gca gca tct aca gcg	gaa gaa	5102
Leu Lys Arg	Ala Gly Asn Ser Leu	Ala Ala Ser Thr Ala	Glu Glu	
1675	1680	1685		
aca gca ggc	agt gcc cag agc cgt	gcc agg gag gct gag	aaa caa	5147
Thr Ala Gly	Ser Ala Gln Ser Arg	Ala Arg Glu Ala Glu	Lys Gln	
1690	1695	1700		
cta cgg gaa	caa gta ggt gac caa	tac caa aca gtg agg	gcg ttg	5192
Leu Arg Glu	Gln Val Gly Asp Gln	Tyr Gln Thr Val Arg	Ala Leu	
1705	1710	1715		
gca gag cgg	aag gct gaa ggt gtt	ctg gct gca caa gcc	agg gca	5237
Ala Glu Arg	Lys Ala Glu Gly Val	Leu Ala Ala Gln Ala	Arg Ala	
1720	1725	1730		

gaa caa ctg cgg gat gag gct cgg gac ctg ttg cag gcc gct cag 5282
 Glu Gln Leu Arg Asp Glu Ala Arg Asp Leu Leu Gln Ala Ala Gln
 1735 1740 1745

gat aag ctg cag cgg cta cag gag ctg gag ggc aca tat gag gag 5327
 Asp Lys Leu Gln Arg Leu Gln Glu Leu Glu Gly Thr Tyr Glu Glu
 1750 1755 1760

aac gag cgt gca ctg gag ggc aaa gcg gcc cag ctg gat ggg ctg 5372
 Asn Glu Arg Ala Leu Glu Gly Lys Ala Ala Gln Leu Asp Gly Leu
 1765 1770 1775

gaa gcc agg atg cgc agt gtg ctc cag gcc atc aac ttg cag gtc 5417
 Glu Ala Arg Met Arg Ser Val Leu Gln Ala Ile Asn Leu Gln Val
 1780 1785 1790

cag atc tac aac acc tgc cag tga ccactcccta gggcctagcc ttgtcgccaa 5471
 Gln Ile Tyr Asn Thr Cys Gln
 1795

gcactgttct gcacacgata gtccgcacat taaagagctc ctggcctagca agagctttca 5531

ataaacctgt gtgaacctca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 5583

<210> 8

<211> 1799

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

Met Glu Trp Ala Ser Gly Glu Pro Gly Arg Gly Arg Gln Gly Gln Pro
 1 5 10 15

Leu Pro Trp Glu Leu Arg Leu Gly Leu Leu Leu Ser Val Leu Ala Ala
20 25 30

Thr Leu Ala Gln Ala Pro Ser Leu Asp Val Pro Gly Cys Ser Arg Gly
35 40 45

Ser Cys Tyr Pro Ala Thr Gly Asp Leu Leu Val Gly Arg Ala Asp Arg
50 55 60

Leu Thr Ala Ser Ser Thr Cys Gly Leu His Ser Pro Gln Pro Tyr Cys
65 70 75 80

Ile Val Ser His Leu Gln Asp Glu Lys Lys Cys Phe Leu Cys Asp Ser
85 90 95

Arg Arg Pro Phe Ser Ala Arg Asp Asn Pro Asn Ser His Arg Ile Gln
100 105 110

Asn Val Val Thr Ser Phe Ala Pro Gln Arg Arg Thr Ala Trp Trp Gln
115 120 125

Ser Glu Asn Gly Val Pro Met Val Thr Ile Gln Leu Asp Leu Glu Ala
130 135 140

Glu Phe His Phe Thr His Leu Ile Met Thr Phe Lys Thr Phe Arg Pro
145 150 155 160

Ala Ala Met Leu Val Glu Arg Ser Ala Asp Phe Gly Arg Thr Trp His
165 170 175

Val Tyr Arg Tyr Phe Ser Tyr Asp Cys Gly Ala Asp Phe Pro Gly Ile
180 185 190

Pro Leu Ala Pro Pro Arg Arg Trp Asp Asp Val Val Cys Glu Ser Arg
195 200 205

Tyr Ser Glu Ile Glu Pro Ser Thr Glu Gly Glu Val Ile Tyr Arg Val
210 215 220

Leu Asp Pro Ala Ile Pro Ile Pro Asp Pro Tyr Ser Ser Arg Ile Gln
225 230 235 240

Asn Leu Leu Lys Ile Thr Asn Leu Arg Val Asn Leu Thr Arg Leu His
245 250 255

Thr Leu Gly Asp Asn Leu Leu Asp Pro Arg Arg Glu Ile Arg Glu Lys
260 265 270

Tyr Tyr Tyr Ala Leu Tyr Glu Leu Val Ile Arg Gly Asn Cys Phe Cys
275 280 285

Tyr Gly His Ala Ser Gln Cys Ala Pro Ala Pro Gly Ala Pro Ala His
290 295 300

Ala Glu Gly Met Val His Gly Ala Cys Ile Cys Lys His Asn Thr Arg
305 310 315 320

Gly Leu Asn Cys Glu Gln Cys Gln Asp Phe Tyr Gln Asp Leu Pro Trp
325 330 335

His Pro Ala Glu Asp Gly His Thr His Ala Cys Arg Lys Cys Glu Cys
340 345 350

Asn Gly His Thr His Ser Cys His Phe Asp Met Ala Val Tyr Leu Ala
355 360 365

Ser Gly Asn Val Ser Gly Gly Val Cys Asp Gly Cys Gln His Asn Thr
370 375 380

Ala Gly Arg His Cys Glu Phe Cys Arg Pro Phe Phe Tyr Arg Asp Pro
385 390 395 400

Thr Lys Asp Met Arg Asp Pro Ala Val Cys Arg Pro Cys Asp Cys Asp
405 410 415

Pro Met Gly Ser Gln Asp Gly Gly Arg Cys Asp Ser His Asp Asp Pro
420 425 430

Val Leu Gly Leu Val Ser Gly Gln Cys Arg Cys Lys Glu His Val Val
435 440 445

Gly Thr Arg Cys Gln Gln Cys Arg Asp Gly Phe Phe Gly Leu Ser Ala
450 455 460

Ser Asp Pro Arg Gly Cys Gln Arg Cys Gln Cys Asn Ser Arg Gly Thr
465 470 475 480

Val Pro Gly Ser Ser Pro Cys Asp Ser Ser Ser Gly Thr Cys Phe Cys
485 490 495

Lys Arg Leu Val Thr Gly His Gly Cys Asp Arg Cys Leu Pro Gly His
500 505 510

Trp Gly Leu Ser His Asp Leu Leu Gly Cys Arg Pro Cys Asp Cys Asp
515 520 525

Val Gly Gly Ala Leu Asp Pro Gln Cys Asp Glu Ala Thr Gly Gln Cys
530 535 540

Arg Cys Arg Gln His Met Ile Gly Arg Arg Cys Glu Gln Val Gln Pro
545 550 555 560

Gly Tyr Phe Arg Pro Phe Leu Asp His Leu Thr Trp Glu Ala Glu Ala
565 570 575

Ala Gln Gly Gln Gly Leu Glu Val Val Glu Arg Leu Val Thr Asn Arg
580 585 590

Glu Thr Pro Ser Trp Thr Gly Pro Gly Phe Val Arg Leu Arg Glu Gly
595 600 605

Gln Glu Val Glu Phe Leu Val Thr Ser Leu Pro Arg Ala Met Asp Tyr
610 615 620

Asp Leu Leu Leu Arg Trp Glu Pro Gln Val Pro Glu Gln Trp Ala Glu
625 630 635 640

Leu Glu Leu Met Val Gln Arg Pro Gly Pro Val Ser Ala His Ser Pro
645 650 655

Cys Gly His Val Leu Pro Lys Asp Asp Arg Ile Gln Gly Met Leu His
660 665 670

Pro Asn Thr Arg Phe Leu Val Phe Pro Arg Pro Val Cys Leu Glu Pro
675 680 685

Gly Ile Ser Tyr Lys Leu Lys Leu Lys Leu Ile Gly Thr Gly Gly Arg
690 695 700

Ala Gln Pro Glu Thr Ser Tyr Ser Gly Leu Leu Ile Asp Ser Leu Val
705 710 715 720

Leu Gln Pro His Val Leu Val Leu Glu Met Phe Ser Gly Gly Asp Ala
725 730 735

Ala Ala Leu Glu Arg Arg Thr Thr Phe Glu Arg Tyr Arg Cys His Glu
740 745 750

Glu Gly Leu Met Pro Ser Lys Ala Pro Leu Ser Glu Thr Cys Ala Pro
755 760 765

Leu Leu Ile Ser Val Ser Ala Leu Ile Tyr Asn Gly Ala Leu Pro Cys
770 775 780

Gln Cys Asp Pro Gln Gly Ser Leu Ser Ser Glu Cys Ser Pro His Gly
785 790 795 800

Gly Gln Cys Arg Cys Lys Pro Gly Val Val Gly Arg Arg Cys Asp Val
805 810 815

Cys Ala Thr Gly Tyr Tyr Gly Phe Gly Pro Ala Gly Cys Gln Ala Cys
820 825 830

Gln Cys Ser Pro Asp Gly Ala Leu Ser Ala Leu Cys Glu Gly Thr Ser
835 840 845

Gly Gln Cys Pro Cys Arg Pro Gly Ala Phe Gly Leu Arg Cys Asp His
850 855 860

Cys Gln Arg Gly Gln Trp Gly Phe Pro Asn Cys Arg Pro Cys Val Cys
865 870 875 880

Asn Gly Arg Ala Asp Glu Cys Asp Thr His Thr Gly Ala Cys Leu Gly
885 890 895

Cys Arg Asp Tyr Thr Gly Gly Glu His Cys Glu Arg Cys Ile Ala Gly
900 905 910

Phe His Gly Asp Pro Arg Leu Pro Tyr Gly Gly Gln Cys Arg Pro Cys
915 920 925

Pro Cys Pro Glu Gly Pro Gly Ser Gln Arg His Phe Ala Thr Ser Cys
930 935 940

His Arg Asp Gly Tyr Ser Gln Gln Ile Val Cys Gln Cys Arg Glu Gly
945 950 955 960

Tyr Thr Gly Leu Arg Cys Glu Ala Cys Ala Pro Gly His Phe Gly Asp
965 970 975

Pro Ser Lys Pro Gly Gly Arg Cys Gln Leu Cys Glu Cys Ser Gly Asn
980 985 990

Ile Asp Pro Met Asp Pro Asp Ala Cys Asp Pro His Thr Gly Gln Cys
995 1000 1005

Leu Arg Cys Leu His Asn Thr Glu Gly Pro His Cys Gly Tyr Cys
1010 1015 1020

Lys Pro Gly Phe His Gly Gln Ala Ala Arg Gln Ser Cys His Arg
1025 1030 1035

Cys Thr Cys Asn Leu Leu Gly Thr Asp Pro Arg Arg Cys Pro Ser
1040 1045 1050

Thr Asp Leu Cys His Cys Asp Pro Ser Thr Gly Gln Cys Pro Cys
1055 1060 1065

Leu Pro His Val Gln Gly Leu Asn Cys Asp His Cys Ala Pro Asn
1070 1075 1080

Phe Trp Asn Phe Thr Ser Gly Arg Gly Cys Gln Pro Cys Ala Cys
1085 1090 1095

His Pro Ser Arg Ala Arg Gly Pro Thr Cys Asn Glu Phe Thr Gly
1100 1105 1110

Gln Cys His Cys His Ala Gly Phe Gly Gly Arg Thr Cys Ser Glu
1115 1120 1125

Cys Gln Glu Leu Tyr Trp Gly Asp Pro Gly Leu Gln Cys Arg Ala
1130 1135 1140

Cys Asp Cys Asp Pro Arg Gly Ile Asp Lys Pro Gln Cys His Arg
1145 1150 1155

Ser Thr Gly His Cys Ser Cys Arg Pro Gly Val Ser Gly Val Arg
1160 1165 1170

Cys Asp Gln Cys Ala Arg Gly Phe Ser Gly Val Phe Pro Ala Cys
1175 1180 1185

His Pro Cys His Ala Cys Phe Gly Asp Trp Asp Arg Val Val Gln
1190 1195 1200

Asp Leu Ala Ala Arg Thr Arg Arg Leu Glu Gln Trp Ala Gln Glu
1205 1210 1215

Leu Gln Gln Thr Gly Val Leu Gly Ala Phe Glu Ser Ser Phe Leu
1220 1225 1230

Asn Met Gln Gly Lys Leu Gly Met Val Gln Ala Ile Met Ser Ala
1235 1240 1245

Arg Asn Ala Ser Ala Ala Ser Thr Ala Lys Leu Val Glu Ala Thr
1250 1255 1260

Glu Gly Leu Arg His Glu Ile Gly Lys Thr Thr Glu Arg Leu Thr
1265 1270 1275

Gln Leu Glu Ala Glu Leu Thr Ala Val Gln Asp Glu Asn Phe Asn
1280 1285 1290

Ala Asn His Ala Leu Ser Gly Leu Glu Arg Asp Gly Leu Ala Leu
1295 1300 1305

Asn Leu Thr Leu Arg Gln Leu Asp Gln His Leu Glu Ile Leu Lys
1310 1315 1320

His Ser Asn Phe Leu Gly Ala Tyr Asp Ser Ile Arg His Ala His
1325 1330 1335

Ser Gln Ser Thr Glu Ala Glu Arg Arg Ala Asn Ala Ser Thr Phe
1340 1345 1350

Ala Val Pro Ser Pro Val Ser Asn Ser Ala Asp Thr Arg Arg Arg
1355 1360 1365

Thr Glu Val Leu Met Gly Ala Gln Lys Glu Asn Phe Asn Arg Gln
1370 1375 1380

His Leu Ala Asn Gln Gln Ala Leu Gly Arg Leu Ser Ala His Ala
1385 1390 1395

His Thr Leu Ser Leu Thr Gly Ile Asn Glu Leu Val Cys Gly Ala
1400 1405 1410

Pro Gly Asp Ala Pro Cys Ala Thr Ser Pro Cys Gly Gly Ala Gly
1415 1420 1425

Cys Arg Asp Glu Asp Gly Gln Pro Arg Cys Gly Gly Leu Gly Cys
1430 1435 1440

Ser Gly Ala Ala Ala Thr Ala Asp Leu Ala Leu Gly Arg Ala Arg
1445 1450 1455

His Thr Gln Ala Glu Leu Gln Arg Ala Leu Val Glu Gly Gly Gly
1460 1465 1470

Ile Leu Ser Arg Val Ser Glu Thr Arg Arg Gln Ala Glu Glu Ala
1475 1480 1485

Gln Gln Arg Ala Gln Ala Ala Leu Asp Lys Ala Asn Ala Ser Arg
1490 1495 1500

Gly Gln Val Glu Gln Ala Asn Gln Glu Leu Arg Glu Leu Ile Gln
1505 1510 1515

Asn Val Lys Asp Phe Leu Ser Gln Glu Gly Ala Asp Pro Asp Ser
1520 1525 1530

Ile Glu Met Val Ala Thr Arg Val Leu Asp Ile Ser Ile Pro Ala
1535 1540 1545

Ser Pro Glu Gln Ile Gln Arg Leu Ala Ser Glu Ile Ala Glu Arg
1550 1555 1560

Val Arg Ser Leu Ala Asp Val Asp Thr Ile Leu Ala His Thr Met
1565 1570 1575

Gly Asp Val Arg Arg Ala Glu Gln Leu Leu Gln Asp Ala His Arg
1580 1585 1590

Ala Arg Ser Arg Ala Glu Gly Glu Arg Gln Lys Ala Glu Thr Val
1595 1600 1605

Gln Ala Ala Leu Glu Glu Ala Gln Arg Ala Gln Gly Ala Ala Gln
1610 1615 1620

Gly Ala Ile Trp Gly Ala Val Val Asp Thr Gln Asn Thr Glu Gln
1625 1630 1635

Thr Leu Gln Arg Val Gln Glu Arg Met Ala Gly Ala Glu Lys Ser
1640 1645 1650

Leu Asn Ser Ala Gly Glu Arg Ala Arg Gln Leu Asp Ala Leu Leu
1655 1660 1665

Glu Ala Leu Lys Leu Lys Arg Ala Gly Asn Ser Leu Ala Ala Ser
1670 1675 1680

Thr Ala Glu Glu Thr Ala Gly Ser Ala Gln Ser Arg Ala Arg Glu
1685 1690 1695

Ala Glu Lys Gln Leu Arg Glu Gln Val Gly Asp Gln Tyr Gln Thr
1700 1705 1710

Val Arg Ala Leu Ala Glu Arg Lys Ala Glu Gly Val Leu Ala Ala
1715 1720 1725

Gln Ala Arg Ala Glu Gln Leu Arg Asp Glu Ala Arg Asp Leu Leu
1730 1735 1740

Gln Ala Ala Gln Asp Lys Leu Gln Arg Leu Gln Glu Leu Glu Gly
1745 1750 1755

Thr Tyr Glu Glu Asn Glu Arg Ala Leu Glu Gly Lys Ala Ala Gln
1760 1765 1770

Leu Asp Gly Leu Glu Ala Arg Met Arg Ser Val Leu Gln Ala Ile
1775 1780 1785

Asn Leu Gln Val Gln Ile Tyr Asn Thr Cys Gln
1790 1795

<210> 9

<211> 5153

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

115	120	125	
ctg acc ttg agc tta ggg aag gcc tat gag att acc tat gtg agg ctg Leu Thr Leu Ser Leu Gly Lys Ala Tyr Glu Ile Thr Tyr Val Arg Leu			432
130	135	140	
aag ttc cac acc agt cgc cct gag agt ttt gcc atc tac aag cgc acg Lys Phe His Thr Ser Arg Pro Glu Ser Phe Ala Ile Tyr Lys Arg Thr			480
145	150	155	160
tac gcc agt ggc ccc tgg gag ccc tac caa tac tac agt gcc tcc tgc Tyr Ala Ser Gly Pro Trp Glu Pro Tyr Gln Tyr Tyr Ser Ala Ser Cys			528
165	170	175	
cag aaa acc tat ggc cgt cct gag ggc cac tac ctg cga cgc ggc gag Gln Lys Thr Tyr Gly Arg Pro Glu Gly His Tyr Leu Arg Pro Gly Glu			576
180	185	190	
gat gag agg gtg gcc ttc tgc acc tct gag ttc agt gac atc tcc ccc Asp Glu Arg Val Ala Phe Cys Thr Ser Glu Phe Ser Asp Ile Ser Pro			624
195	200	205	
ttg aac ggg ggc aac gtg gcc ttc tcc acc ctg gaa ggc cgt ccc agt Leu Asn Gly Gly Asn Val Ala Phe Ser Thr Leu Glu Gly Arg Pro Ser			672
210	215	220	
gcc tac aac ttt gag gag agc cct gtg ctg cag gag tgg gtc acc agc Ala Tyr Asn Phe Glu Glu Ser Pro Val Leu Gln Glu Trp Val Thr Ser			720
225	230	235	240
act gac atc ctg atc tct cta gat cgg ctc aac acg ttt ggg gat gac Thr Asp Ile Leu Ile Ser Leu Asp Arg Leu Asn Thr Phe Gly Asp Asp			768
245	250	255	
atc ttc aag gac ccc aga gtg ctc cag tct tac tac tac gct gtg tct Ile Phe Lys Asp Pro Arg Val Leu Gln Ser Tyr Tyr Tyr Ala Val Ser			816

260	265	270	
gac ttc tct gtg ggt ggc agg tgc aaa tgc aat ggt cac gcc agt gaa			864
Asp Phe Ser Val Gly Gly Arg Cys Lys Cys Asn Gly His Ala Ser Glu			
275	280	285	
tgc gaa ccc aat gcg got ggt cag ctg got tgc cgc tgt cag cac aac			912
Cys Glu Pro Asn Ala Ala Gly Gln Leu Ala Cys Arg Cys Gln His Asn			
290	295	300	
acc aca gga gtg gac tgc gag cgt tgt ctg ccc ttc ttc cag gac cgt			960
Thr Thr Gly Val Asp Cys Glu Arg Cys Leu Pro Phe Phe Gln Asp Arg			
305	310	315	320
cgc tgg gcc cga ggc acc gcc gag gat gcc aac gag tgt ctg ccc tgc			1008
Pro Trp Ala Arg Gly Thr Ala Glu Asp Ala Asn Glu Cys Leu Pro Cys			
325	330	335	
aac tgc agt ggg cac tct gag gag tgc acg ttt gac agg gag ctc tat			1056
Asn Cys Ser Gly His Ser Glu Glu Cys Thr Phe Asp Arg Glu Leu Tyr			
340	345	350	
cgg agc aca ggc cat ggt ggg cac tgt cag cgg tgc cgt gac cac aca			1104
Arg Ser Thr Gly His Gly Gly His Cys Gln Arg Cys Arg Asp His Thr			
355	360	365	
act ggg cca cac tgt gag cgc tgt gag aag aac tac tac aga tgg tcc			1152
Thr Gly Pro His Cys Glu Arg Cys Glu Lys Asn Tyr Tyr Arg Trp Ser			
370	375	380	
cgc aag aca cca tgc caa ccc tgt gac tgc cac cca gca ggc tct ctg			1200
Pro Lys Thr Pro Cys Gln Pro Cys Asp Cys His Pro Ala Gly Ser Leu			
385	390	395	400
agt ctc cag tgt gac aac tca ggc gtc tgt ccc tgc aag ccc aca gtg			1248
Ser Leu Gln Cys Asp Asn Ser Gly Val Cys Pro Cys Lys Pro Thr Val			

405	410	415	
act ggc tgg aag tgt gac cgc tgc ctg cct gga ttc cac tca ctc agt			1296
Thr Gly Trp Lys Cys Asp Arg Cys Leu Pro Gly Phe His Ser Leu Ser			
420	425	430	
gag ggc ggc tgc aga ccc tgt gcc tgc aat gtc gcc ggc agc ttg ggc			1344
Glu Gly Gly Cys Arg Pro Cys Ala Cys Asn Val Ala Gly Ser Leu Gly			
435	440	445	
acc tgt gac ccc cgc agt ggg aac tgt ccc tgc aaa gag aat gta gaa			1392
Thr Cys Asp Pro Arg Ser Gly Asn Cys Pro Cys Lys Glu Asn Val Glu			
450	455	460	
ggc agc ctg tgt gac aga tgc cgc cct ggg aca ttt aac ctg cag ccc			1440
Gly Ser Leu Cys Asp Arg Cys Arg Pro Gly Thr Phe Asn Leu Gln Pro			
465	470	475	480
cac aat cca gtg ggc tgc agc agc tgc ttc tgt tat ggccactcca			1486
His Asn Pro Val Gly Cys Ser Ser Cys Phe Cys Tyr			
485	490		
agggtgtgttc tcctgtgtgcc gggttcagg aacaccacat ccgtcagac ttccgccatg			1546
gagctgggtgg ctggcagatc agaagcatgg gagtgtccaa gcgtcctctg caatggagcc			1606
agagtgggct cctcctgggc ctgcgaggag gggaggaact ctcagcccca aagaagttcc			1666
tgggagacca gagactcagc tatggacagc cagtcatact gaccctccaa gtacccctg			1726
gaggctcccc acctcctatt cagctgagac tggagggagc aggccttggt ctgtctctga			1786
ggccctccag totaccagc cctcaggaca ccaggcagcc aagacgagtt cagctccagt			1846
tcctcttgca ggagacttot gaggaggcag agtccccact gccaccttc cacttcagc			1906

gcctgctttc caatctgact gctctgagca tctggaccag tggccaagga ccgggccatt 1966
ctggccaagt gctcttgtgt gaagttcagc tcacatcggc ctggccccag cgtgagcttg 2026
cccctccagc ctcttgggtg gagacctgct tatgtcccca gggatacaca ggccagttct 2086
gtgaattctg tgctctggga tacaagagag aaatacctca tgggggtccc tatgccaact 2146
gcattccctg cacctgcaac cagcatggca cctgtgacco caacacaggg atctgcctgt 2206
gtggccacca caccgagggt ccatcctgtg agcgggtgat gccaggtttc tacggtaacg 2266
ccttctcagg ccgtgctgat gattgccago cctgtccgtg ccctggccaa tcagcctgtg 2326
caaccatccc agagagtgga gatgtggtgt gcacacactg ccctcctggt cagagaggac 2386
gacgatgoga gagctgcgaa gatggctttt ttggggatcc tctagggtc tctggagctc 2446
cccagccctg ccgccgatgc cagtgcagcg ggaacgtgga tctcaatgct gtgggcaact 2506
gtgatcctca ttctggccac tgcttgcgct gtctgtacaa cagcacaggg gccactgcg 2566
agcactgtcg ggagggtttc tacgggagtg ccgtggccac aaggcccgtg gacaaatgtg 2626
ctccctgcag ctgtgacctg aggggctcag tcagtgagaa gacctgcaac cctgtgactg 2686
gccagtgtgt ctgcctgcct tatgtctccg ggagggactg cagccgctgc agccctggct 2746
tctatgacct ccagtctggg aggggctgcc agagctgcaa atgtcaccca cttggatcct 2806
tggaagaataa gtgccacccc aagactggcc agtgtccctg ccgacctggt gtcactggcc 2866
aagcctgtga cagatgccag ctaggtttct ttggcttctc catcaagggc tgccgagact 2926
gtaggtgctc ccattgggt gctgcctcat ctcaagtcca tgagaacago acctgtgtgt 2986

gocggccogg ctttgtgggc tataaatgcg accgctgcc a ggacaatttc ttocctogg 3046
atggcgacac aggttgccaa gagtgtocca cttgctatgc cctagtgaag gaagaggcag 3106
ccaagctgaa ggccaggttg atgtgatgg aggggtggct tcaaaggtct gactgtggta 3166
gccccctgggg accactagac attctgcagg gagaagcccc totgggggat gtctaccaag 3226
gtcaccacct acttcaagag acccggggga ccttcctgca gcagatggtg ggcctggagg 3286
attctgtgaa ggccacttgg gagcagttgc aggtgctgag agggcatgta cactgtgccc 3346
aggttgagc tcagaagacc tgcattccagc tggcagagct ggaggagaca ttgcagtcct 3406
cagaggagga ggtccttcgt gcagcctcag ctctctcatt totggcaagt cttcagaaag 3466
gatccagcac acccaccaat tggagtcacc tggcatcaga ggcccagatc cttgccagaa 3526
gccacagga cacggccacc aagatcgaag ctacctcgga aagggccctg ctgcctcca 3586
acgccagcta tgagctcctg aagctgatgg aaggcagagt ggcctcggaa gccagcagg 3646
aactggagga caggtaccag gaggtgcagg cagctcagac tgcctgggc atagctgtgg 3706
cagaggcgct gcccaaagct gaaaaggcac tggccacggt gaagcaagtc atttggtgacg 3766
cagccccaca tctaggcttg ctggtcacc ctgaagcaat gaacttcaa gccaggggcc 3826
tgagctggaa agtgaaggcc ctggagcaga agctggagca gaaggagccc gaggtgggcc 3886
agtctgtggg agccctgcag gtggaggctg gaagagcctt ggagaagatg gagcccttta 3946
tgagctacg caataagacc acagctgcct tcacacgggc ttctcagct gtgcaagctg 4006
ccaaggtgac cgtcatagga gcagagaccc tgctagctga cctagaggga atgaagctga 4066

ggctctctct acccaaggag caggcagcgc tgaagaagaa agcaggcagc atcaggacca 4126

ggctcctgga ggacacaaag aggaagacca agcatgcaga gaggatgctg ggaaatgctg 4186

cctctctctc ctccagcacc aagaagaaaa gcaaagaagc agaactgatg tctaaggaca 4246

atgccaaagct ctccagagct ttgctgaggg aaggcaagca gggctaccgt catgccagcc 4306

gactcgccag ccagaccag gccacactcc gtcgggcctc tcgcctgctg ctgacctcag 4366

aagcacacaa gcaggagctg gaggaagcta aacaggtagc ctctgggctg agcactgtgg 4426

agcgccaggt ccgagagtct cggatctcct tggagaagga caccaaggtc ctgtcagagc 4486

tgcttgtgaa gctggggctc ctgggtgtcc accaagcccc tgctcagacc ctgaacgaga 4546

cccagcgggc actagaaagc ttgaggctgc agctggattc ccacggagcc ctgcatcaca 4606

aactgaggca gctggaggaa gagtctgctc gacaggagct gcagattcag agctttgagg 4666

acgaccttgc tgagatccgc gctgacaagc acaacttgga gaccattctg agcagtctgc 4726

cagagaactg tgccagctag accctggtac accctcccca ccttgccgtt tctgttccac 4786

tccctgtagg tgtcccaggt ctgcctgtcg tatgttcacg tgaatgcttg tttgctggtg 4846

catcttcggg ctgagcagga gtgaatacat gctcacacct ccacagatga cctgtatgt 4906

agtcctcagt gtgtactctc taaacgtgca tcagcataca cccccagta tttgcacata 4966

tgtgtatgtg atgcaactgat gtgttaagac cacctgtgtg catgcacaca tatgagagtc 5026

tagagctgtg gagagcagtc ctgagcttgg cacatccaca ttctgggtggg ttctgtctat 5086

gaatatcctg caggatgaca catctacacc tctcagaat cagggccaac aggtgtactc 5146

gagctga

5153

<210> 10

<211> 492

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 10

Met Ala Val Ser Arg Val Leu Ser Leu Leu Ala Thr Val Ala Ser Met
1 5 10 15

Ala Leu Val Ile Gln Glu Thr His Phe Ala Ala Gly Ala Asp Met Gly
20 25 30

Ser Cys Tyr Asp Gly Val Gly Arg Ala Gln Arg Cys Leu Pro Glu Phe
35 40 45

Glu Asn Ala Ala Phe Gly Arg Arg Ala Glu Ala Ser His Thr Cys Gly
50 55 60

Arg Pro Pro Glu Asp Phe Cys Pro His Val Gly Ala Pro Gly Ala Gly
65 70 75 80

Leu Gln Cys Gln Arg Cys Asp Asp Ala Asp Pro Gly Arg Arg His Asp
85 90 95

Ala Ser Tyr Leu Thr Asp Phe His Ser Pro Asp Asp Ser Thr Trp Trp
100 105 110

Gln Ser Pro Ser Met Ala Phe Gly Val Gln Tyr Pro Thr Ser Val Asn
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Leu Gly Lys Ala Tyr Glu Ile Thr Tyr Val Arg Leu
130 135 140

Lys Phe His Thr Ser Arg Pro Glu Ser Phe Ala Ile Tyr Lys Arg Thr
145 150 155 160

Tyr Ala Ser Gly Pro Trp Glu Pro Tyr Gln Tyr Tyr Ser Ala Ser Cys
165 170 175

Gln Lys Thr Tyr Gly Arg Pro Glu Gly His Tyr Leu Arg Pro Gly Glu
180 185 190

Asp Glu Arg Val Ala Phe Cys Thr Ser Glu Phe Ser Asp Ile Ser Pro
195 200 205

Leu Asn Gly Gly Asn Val Ala Phe Ser Thr Leu Glu Gly Arg Pro Ser
210 215 220

Ala Tyr Asn Phe Glu Glu Ser Pro Val Leu Gln Glu Trp Val Thr Ser
225 230 235 240

Thr Asp Ile Leu Ile Ser Leu Asp Arg Leu Asn Thr Phe Gly Asp Asp
245 250 255

Ile Phe Lys Asp Pro Arg Val Leu Gln Ser Tyr Tyr Tyr Ala Val Ser
260 265 270

Asp Phe Ser Val Gly Gly Arg Cys Lys Cys Asn Gly His Ala Ser Glu
275 280 285

Cys Glu Pro Asn Ala Ala Gly Gln Leu Ala Cys Arg Cys Gln His Asn
290 295 300

Thr Thr Gly Val Asp Cys Glu Arg Cys Leu Pro Phe Phe Gln Asp Arg
305 310 315 320

Pro Trp Ala Arg Gly Thr Ala Glu Asp Ala Asn Glu Cys Leu Pro Cys
325 330 335

Asn Cys Ser Gly His Ser Glu Glu Cys Thr Phe Asp Arg Glu Leu Tyr
340 345 350

Arg Ser Thr Gly His Gly Gly His Cys Gln Arg Cys Arg Asp His Thr
355 360 365

Thr Gly Pro His Cys Glu Arg Cys Glu Lys Asn Tyr Tyr Arg Trp Ser
370 375 380

Pro Lys Thr Pro Cys Gln Pro Cys Asp Cys His Pro Ala Gly Ser Leu
385 390 395 400

Ser Leu Gln Cys Asp Asn Ser Gly Val Cys Pro Cys Lys Pro Thr Val
405 410 415

Thr Gly Trp Lys Cys Asp Arg Cys Leu Pro Gly Phe His Ser Leu Ser
420 425 430

Glu Gly Gly Cys Arg Pro Cys Ala Cys Asn Val Ala Gly Ser Leu Gly
435 440 445

Thr Cys Asp Pro Arg Ser Gly Asn Cys Pro Cys Lys Glu Asn Val Glu
450 455 460

Gly Ser Leu Cys Asp Arg Cys Arg Pro Gly Thr Phe Asn Leu Gln Pro
465 470 475 480

His Asn Pro Val Gly Cys Ser Ser Cys Phe Cys Tyr
485 490

<210> 11

<211> 2265

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 11

Gln Ala Gln Gln Ile Val Gln Pro Gln Ser Pro Leu Thr Val Ser Gln

1 5 10 15

Ser Lys Pro Gly Cys Tyr Asp Asn Gly Lys His Tyr Gln Ile Asn Gln
20 25 30

Gln Trp Glu Arg Thr Tyr Leu Gly Ser Ala Leu Val Cys Thr Cys Tyr
35 40 45

Gly Gly Ser Arg Gly Phe Asn Cys Glu Ser Lys Pro Glu Pro Glu Glu
50 55 60

Thr Cys Phe Asp Lys Tyr Thr Gly Asn Thr Tyr Arg Val Gly Asp Thr
65 70 75 80

Tyr Glu Arg Pro Lys Asp Ser Met Ile Trp Asp Cys Thr Cys Ile Gly
85 90 95

Ala Gly Arg Gly Arg Ile Ser Cys Thr Ile Ala Asn Arg Cys His Glu
100 105 110

Gly Gly Gln Ser Tyr Lys Ile Gly Asp Thr Trp Arg Arg Pro His Glu
115 120 125

Thr Gly Gly Tyr Met Leu Glu Cys Val Cys Leu Gly Asn Gly Lys Gly
130 135 140

Glu Trp Thr Cys Lys Pro Ile Ala Glu Lys Cys Phe Asp Gln Ala Ala
145 150 155 160

Gly Thr Ser Tyr Val Val Gly Glu Thr Trp Glu Lys Pro Tyr Gln Gly
165 170 175

Trp Met Met Val Asp Cys Thr Cys Leu Gly Glu Gly Ser Gly Arg Ile
180 185 190

Thr Cys Thr Ser Arg Asn Arg Cys Asn Asp Gln Asp Thr Arg Thr Ser
195 200 205

Tyr Arg Ile Gly Asp Thr Trp Ser Lys Lys Asp Asn Arg Gly Asn Leu
210 215 220

Leu Gln Cys Ile Cys Thr Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Lys Cys Glu
225 230 235 240

Arg His Thr Ser Leu Gln Thr Thr Ser Ala Gly Ser Gly Ser Phe Thr
245 250 255

Asp Val Arg Thr Ala Ile Tyr Gln Pro Gln Pro His Pro Gln Pro Pro
260 265 270

Pro Tyr Gly His Cys Val Thr Asp Ser Gly Val Val Tyr Ser Val Gly
275 280 285

Met Gln Trp Leu Lys Thr Gln Gly Asn Lys Gln Met Leu Cys Thr Cys
290 295 300

Leu Gly Asn Gly Val Ser Cys Gln Glu Thr Ala Val Thr Gln Thr Tyr
305 310 315 320

Gly Gly Asn Ser Asn Gly Glu Pro Cys Val Leu Pro Phe Thr Tyr Asn
325 330 335

Gly Lys Thr Phe Tyr Ser Cys Thr Thr Glu Gly Arg Gln Asp Gly His
340 345 350

Leu Trp Cys Ser Thr Thr Ser Asn Tyr Glu Gln Asp Gln Lys Tyr Ser
355 360 365

Phe Cys Thr Asp His Thr Val Leu Val Gln Thr Arg Gly Gly Asn Ser
370 375 380

Asn Gly Ala Leu Cys His Phe Pro Phe Leu Tyr Asn Asn His Asn Tyr
385 390 395 400

Thr Asp Cys Thr Ser Glu Gly Arg Arg Asp Asn Met Lys Trp Cys Gly
405 410 415

Thr Thr Gln Asn Tyr Asp Ala Asp Gln Lys Phe Gly Phe Cys Pro Met
420 425 430

Ala Ala His Glu Glu Ile Cys Thr Thr Asn Glu Gly Val Met Tyr Arg
435 440 445

Ile Gly Asp Gln Trp Asp Lys Gln His Asp Met Gly His Met Met Arg
450 455 460

Cys Thr Cys Val Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Thr Cys Val Ala Tyr
465 470 475 480

Ser Gln Leu Arg Asp Gln Cys Ile Val Asp Gly Ile Thr Tyr Asn Val
485 490 495

Asn Asp Thr Phe His Lys Arg His Glu Glu Gly His Met Leu Asn Cys
500 505 510

Thr Cys Phe Gly Gln Gly Arg Gly Arg Trp Lys Cys Asp Pro Val Asp
515 520 525

Gln Cys Gln Asp Ser Glu Thr Arg Thr Phe Tyr Gln Ile Gly Asp Ser
530 535 540

Trp Glu Lys Tyr Leu Gln Gly Val Arg Tyr Gln Cys Tyr Cys Tyr Gly
545 550 555 560

Arg Gly Ile Gly Glu Trp Ala Cys Gln Pro Leu Gln Thr Tyr Pro Asp
565 570 575

Thr Ser Gly Pro Val Gln Val Ile Ile Thr Glu Thr Pro Ser Gln Pro
580 585 590

Asn Ser His Pro Ile Gln Trp Ser Ala Pro Glu Ser Ser His Ile Ser
595 600 605

Lys Tyr Ile Leu Arg Trp Lys Pro Lys Asn Ser Pro Asp Arg Trp Lys
610 615 620

Glu Ala Thr Ile Pro Gly His Leu Asn Ser Tyr Thr Ile Lys Gly Leu
625 630 635 640

Arg Pro Gly Val Val Tyr Glu Gly Gln Leu Ile Ser Val Gln His Tyr
645 650 655

Gly Gln Arg Glu Val Thr Arg Phe Asp Phe Thr Thr Thr Ser Thr Ser
660 665 670

Pro Ala Val Thr Ser Asn Thr Val Thr Gly Glu Thr Thr Pro Leu Ser
675 680 685

Pro Val Val Ala Thr Ser Glu Ser Val Thr Glu Ile Thr Ala Ser Ser
690 695 700

Phe Val Val Ser Trp Val Ser Ala Ser Asp Thr Val Ser Gly Phe Arg
705 710 715 720

Val Glu Tyr Glu Leu Ser Glu Glu Gly Asp Glu Pro Gln Tyr Leu Asp
725 730 735

Leu Pro Ser Thr Ala Thr Ser Val Asn Ile Pro Asp Leu Leu Pro Gly
740 745 750

Arg Lys Tyr Thr Val Asn Val Tyr Glu Ile Ser Glu Glu Gly Glu Gln
755 760 765

Asn Leu Ile Leu Ser Thr Ser Gln Thr Thr Ala Pro Asp Ala Pro Pro
770 775 780

Asp Pro Thr Val Asp Gln Val Asp Asp Thr Ser Ile Val Val Arg Trp
785 790 795 800

Ser Arg Pro Arg Ala Pro Ile Thr Gly Tyr Arg Ile Val Tyr Ser Pro
805 810 815

Ser Val Glu Gly Ser Ser Thr Glu Leu Asn Leu Pro Glu Thr Ala Asn
820 825 830

Ser Val Thr Leu Ser Asp Leu Gln Pro Gly Val Gln Tyr Asn Ile Thr
835 840 845

Ile Tyr Ala Val Glu Glu Asn Gln Glu Ser Thr Pro Val Phe Ile Gln
850 855 860

Gln Glu Thr Thr Gly Val Pro Arg Ser Asp Lys Val Pro Pro Pro Arg
865 870 875 880

Asp Leu Gln Phe Val Glu Val Thr Asp Val Lys Ile Thr Ile Met Trp
885 890 895

Thr Pro Pro Glu Ser Pro Val Thr Gly Tyr Arg Val Asp Val Ile Pro
900 905 910

Val Asn Leu Pro Gly Glu His Gly Gln Arg Leu Pro Val Ser Arg Asn
915 920 925

Thr Phe Ala Glu Val Thr Gly Leu Ser Pro Gly Val Thr Tyr His Phe
930 935 940

Lys Val Phe Ala Val Asn Gln Gly Arg Glu Ser Lys Pro Leu Thr Ala
945 950 955 960

Gln Gln Ala Thr Lys Leu Asp Ala Pro Thr Asn Leu Gln Phe Ile Asn
965 970 975

Glu Thr Asp Thr Thr Val Ile Val Thr Trp Thr Pro Pro Arg Ala Arg
980 985 990

Ile Val Gly Tyr Arg Leu Thr Val Gly Leu Thr Arg Gly Gly Gln Pro
995 1000 1005

Lys Gln Tyr Asn Val Gly Pro Ala Ala Ser Gln Tyr Pro Leu Arg
1010 1015 1020

Asn Leu Gln Pro Gly Ser Glu Tyr Ala Val Ser Leu Val Ala Val
1025 1030 1035

Lys Gly Asn Gln Gln Ser Pro Arg Val Thr Gly Val Phe Thr Thr
1040 1045 1050

Leu Gln Pro Leu Gly Ser Ile Pro His Tyr Asn Thr Glu Val Thr
1055 1060 1065

Glu Thr Thr Ile Val Ile Thr Trp Thr Pro Ala Pro Arg Ile Gly
1070 1075 1080

Phe Lys Leu Gly Val Arg Pro Ser Gln Gly Gly Glu Ala Pro Arg
1085 1090 1095

Glu Val Thr Ser Glu Ser Gly Ser Ile Val Val Ser Gly Leu Thr
1100 1105 1110

Pro Gly Val Glu Tyr Val Tyr Thr Ile Ser Val Leu Arg Asp Gly
1115 1120 1125

Gln Glu Arg Asp Ala Pro Ile Val Lys Lys Val Val Thr Pro Leu
1130 1135 1140

Ser Pro Pro Thr Asn Leu His Leu Glu Ala Asn Pro Asp Thr Gly
1145 1150 1155

Val Leu Thr Val Ser Trp Glu Arg Ser Thr Thr Pro Asp Ile Thr
1160 1165 1170

Gly Tyr Arg Ile Thr Thr Thr Pro Thr Asn Gly Gln Gln Gly Tyr
1175 1180 1185

Ser Leu Glu Glu Val Val His Ala Asp Gln Ser Ser Cys Thr Phe
1190 1195 1200

Glu Asn Leu Ser Pro Gly Leu Glu Tyr Asn Val Ser Val Tyr Thr
1205 1210 1215

Val Lys Asp Asp Lys Glu Ser Val Pro Ile Ser Asp Thr Ile Ile
1220 1225 1230

Pro Ala Val Pro Pro Pro Thr Asp Leu Arg Phe Thr Asn Val Gly
1235 1240 1245

Pro Asp Thr Met Arg Val Thr Trp Ala Pro Pro Ser Ser Ile Glu
1250 1255 1260

Leu Thr Asn Leu Leu Val Arg Tyr Ser Pro Val Lys Asn Glu Glu
1265 1270 1275

Asp Val Ala Glu Leu Ser Ile Ser Pro Ser Asp Asn Ala Val Val
1280 1285 1290

Leu Thr Asn Leu Leu Pro Gly Thr Glu Tyr Leu Val Ser Val Ser
1295 1300 1305

Ser Val Tyr Glu Gln His Glu Ser Ile Pro Leu Arg Gly Arg Gln
1310 1315 1320

Lys Thr Ala Leu Asp Ser Pro Ser Gly Ile Asp Phe Ser Asp Ile
1325 1330 1335

Thr Ala Asn Ser Phe Thr Val His Trp Ile Ala Pro Arg Ala Thr
1340 1345 1350

Ile Thr Gly Tyr Arg Ile Arg His His Pro Glu Asn Met Gly Gly
1355 1360 1365

Arg Pro Arg Glu Asp Arg Val Pro Pro Ser Arg Asn Ser Ile Thr
1370 1375 1380

Leu Thr Asn Leu Asn Pro Gly Thr Glu Tyr Val Val Ser Ile Val
1385 1390 1395

Ala Leu Asn Ser Lys Glu Glu Ser Leu Pro Leu Val Gly Gln Gln
1400 1405 1410

Ser Thr Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Ile Ala Ala
1415 1420 1425

Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr
1430 1435 1440

Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Ser Ser
1445 1450 1455

Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr
1460 1465 1470

Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr
1475 1480 1485

Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Val
1490 1495 1500

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Met Gln
1505 1510 1515

Val Thr Asp Val Gln Asp Asn Ser Ile Ser Val Arg Trp Leu Pro
1520 1525 1530

Ser Ser Ser Pro Val Thr Gly Tyr Arg Val Thr Thr Ala Pro Lys
1535 1540 1545

Asn Gly Pro Gly Pro Ser Lys Thr Lys Thr Val Gly Pro Asp Gln
1550 1555 1560

Thr Glu Met Thr Ile Glu Gly Leu Gln Pro Thr Val Glu Tyr Val
1565 1570 1575

Val Ser Val Tyr Ala Gln Asn Gln Asn Gly Glu Ser Gln Pro Leu
1580 1585 1590

Val Gln Thr Ala Val Thr Thr Ile Pro Ala Pro Thr Asn Leu Lys
1595 1600 1605

Phe Thr Gln Val Thr Pro Thr Ser Leu Thr Ala Gln Trp Thr Ala
1610 1615 1620

Pro Asn Val Gln Leu Thr Gly Tyr Arg Val Arg Val Thr Pro Lys
1625 1630 1635

Glu Lys Thr Gly Pro Met Lys Glu Ile Asn Leu Ala Pro Asp Ser
1640 1645 1650

Ser Ser Val Val Val Ser Gly Leu Met Val Ala Thr Lys Tyr Glu
1655 1660 1665

Val Ser Val Tyr Ala Leu Lys Asp Thr Leu Thr Ser Arg Pro Ala
1670 1675 1680

Gln Gly Val Val Thr Thr Leu Glu Asn Val Ser Pro Pro Arg Arg
1685 1690 1695

Ala Arg Val Thr Asp Ala Thr Glu Thr Thr Ile Thr Ile Ser Trp
1700 1705 1710

Arg Thr Lys Thr Glu Thr Ile Thr Gly Phe Gln Val Asp Ala Ile
1715 1720 1725

Pro Ala Asn Gly Gln Thr Pro Ile Gln Arg Thr Ile Arg Pro Asp
1730 1735 1740

Val Arg Ser Tyr Thr Ile Thr Gly Leu Gln Pro Gly Thr Asp Tyr
1745 1750 1755

Lys Ile His Leu Tyr Thr Leu Asn Asp Asn Ala Arg Ser Ser Pro
1760 1765 1770

Val Val Ile Asp Ala Ser Thr Ala Ile Asp Ala Pro Ser Asn Leu
1775 1780 1785

Arg Phe Leu Ala Thr Thr Pro Asn Ser Leu Leu Val Ser Trp Gln
1790 1795 1800

Pro Pro Arg Ala Arg Ile Thr Gly Tyr Ile Ile Lys Tyr Glu Lys
1805 1810 1815

Pro Gly Ser Pro Pro Arg Glu Val Val Pro Arg Pro Arg Pro Gly
1820 1825 1830

Val Thr Glu Ala Thr Ile Thr Gly Leu Glu Pro Gly Thr Glu Tyr
1835 1840 1845

Thr Ile Gln Val Ile Ala Leu Lys Asn Asn Gln Lys Ser Glu Pro
1850 1855 1860

Leu Ile Gly Arg Lys Lys Thr Asp Glu Leu Pro Gln Leu Val Thr
1865 1870 1875

Leu Pro His Pro Asn Leu His Gly Pro Glu Ile Leu Asp Val Pro
1880 1885 1890

Ser Thr Val Gln Lys Thr Pro Phe Ile Thr Asn Pro Gly Tyr Asp
1895 1900 1905

Thr Gly Asn Gly Ile Gln Leu Pro Gly Thr Ser Gly Gln Gln Pro
1910 1915 1920

Ser Leu Gly Gln Gln Met Ile Phe Glu Glu His Gly Phe Arg Arg
1925 1930 1935

Thr Thr Pro Pro Thr Thr Ala Thr Pro Val Arg His Arg Pro Arg
1940 1945 1950

Pro Tyr Pro Pro Asn Val Asn Glu Glu Ile Gln Ile Gly His Val
1955 1960 1965

Pro Arg Gly Asp Val Asp His His Leu Tyr Pro His Val Val Gly
1970 1975 1980

Leu Asn Pro Asn Ala Ser Thr Gly Gln Glu Ala Leu Ser Gln Thr
1985 1990 1995

Thr Ile Ser Trp Thr Pro Phe Gln Glu Ser Ser Glu Tyr Ile Ile
2000 2005 2010

Ser Cys His Pro Val Gly Ile Asp Glu Glu Pro Leu Gln Phe Arg
2015 2020 2025

Val Pro Gly Thr Ser Ala Ser Ala Thr Leu Thr Gly Leu Thr Arg
2030 2035 2040

Gly Ala Thr Tyr Asn Ile Ile Val Glu Ala Val Lys Asp Gln Gln
2045 2050 2055

Arg Gln Lys Val Arg Glu Glu Val Val Thr Val Gly Asn Ser Val
2060 2065 2070

Asp Gln Gly Leu Ser Gln Pro Thr Asp Asp Ser Cys Phe Asp Pro
2075 2080 2085

Tyr Thr Val Ser His Tyr Ala Ile Gly Glu Glu Trp Glu Arg Leu
2090 2095 2100

Ser Asp Ser Gly Phe Lys Leu Ser Cys Gln Cys Leu Gly Phe Gly
2105 2110 2115

Ser Gly His Phe Arg Cys Asp Ser Ser Lys Trp Cys His Asp Asn
2120 2125 2130

Gly Val Asn Tyr Lys Ile Gly Glu Lys Trp Asp Arg Gln Gly Glu
2135 2140 2145

Asn Gly Gln Met Met Ser Cys Thr Cys Leu Gly Asn Gly Lys Gly
2150 2155 2160

Glu Phe Lys Cys Asp Pro His Glu Ala Thr Cys Tyr Asp Asp Gly
2165 2170 2175

Lys Thr Tyr His Val Gly Glu Gln Trp Gln Lys Glu Tyr Leu Gly
2180 2185 2190

Ala Ile Cys Ser Cys Thr Cys Phe Gly Gly Gln Arg Gly Trp Arg
2195 2200 2205

Cys Asp Asn Cys Arg Arg Pro Gly Ala Glu Pro Gly Asn Glu Gly
2210 2215 2220

Ser Thr Ala His Ser Tyr Asn Gln Tyr Ser Gln Arg Tyr His Gln
2225 2230 2235

Arg Thr Asn Thr Asn Val Asn Cys Pro Ile Glu Cys Phe Met Pro
2240 2245 2250

Leu Asp Val Gln Ala Asp Arg Glu Asp Ser Arg Glu
2255 2260 2265

<210> 12

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial

<400> 12

AAGCAGCAGG ACUUCUCAA G

21

<210> 13

<211> 984

<212> DNA

<213> Mus musculus

<300>

<308> AF106007

<309> 1999-02-08

<313> (1).. (984)

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (984)

<400> 13

atg gag cga agg aac cac act ggg aga gtg agt gaa ttt gtg ttg ctg 48
 Met Glu Arg Arg Asn His Thr Gly Arg Val Ser Glu Phe Val Leu Leu
 1 5 10 15

ggt ttc cca gct cct gcc cca ctg cgg gca cta cta ttt ttc ctt tct 96
 Gly Phe Pro Ala Pro Ala Pro Leu Arg Ala Leu Leu Phe Phe Leu Ser
 20 25 30

ctg ttg gcc tac gtg ttg gtg ctg act gaa aac ata ctc atc att aca 144
 Leu Leu Ala Tyr Val Leu Val Leu Thr Glu Asn Ile Leu Ile Ile Thr
 35 40 45

gca att agg aac cac ccc acc ctc cac aaa ccc atg tat ttt ttc ttg 192
 Ala Ile Arg Asn His Pro Thr Leu His Lys Pro Met Tyr Phe Phe Leu
 50 55 60

gct aat atg tca ttc ctg gag att tgg tat gtc act gtt acg att cct 240
 Ala Asn Met Ser Phe Leu Glu Ile Trp Tyr Val Thr Val Thr Ile Pro
 65 70 75 80

aag atg ctt gct ggc ttc att ggt tcc gag gag aat cat gga cag ctg 288
 Lys Met Leu Ala Gly Phe Ile Gly Ser Glu Glu Asn His Gly Gln Leu
 85 90 95

atc tcc ttt gag gca tgc atg aca cag ctc tac ttt ttc cta ggc ttg 336
 Ile Ser Phe Glu Ala Cys Met Thr Gln Leu Tyr Phe Phe Leu Gly Leu
 100 105 110

ggt tgc aca gag tgt gtc ctt ctt gct gtc atg gcc tat gac cgc tat 384
 Gly Cys Thr Glu Cys Val Leu Leu Ala Val Met Ala Tyr Asp Arg Tyr
 115 120 125

gtg gcc atc tgt cac cca ctc cac tat cct gtc att gtc agt agc cgg 432
 Val Ala Ile Cys His Pro Leu His Tyr Pro Val Ile Val Ser Ser Arg

130	135	140	
cta tgt gtg cag atg gca gct gga tcc tgg gct gga ggt ttt ggt atc			480
Leu Cys Val Gln Met Ala Ala Gly Ser Trp Ala Gly Gly Phe Gly Ile			
145	150	155	160
tcc atg gtt aaa gtt ttc ctc att tct cgc ctg tct tac tgt ggc ccc			528
Ser Met Val Lys Val Phe Leu Ile Ser Arg Leu Ser Tyr Cys Gly Pro			
	165	170	175
aac acc atc aac cac ttt ttc tgt gat gtt tct cca ttg ctc aac ttg			576
Asn Thr Ile Asn His Phe Phe Cys Asp Val Ser Pro Leu Leu Asn Leu			
	180	185	190
tca tgc act gac atg tcc aca gca gag ott aca gac ttt atc ctg gcc			624
Ser Cys Thr Asp Met Ser Thr Ala Glu Leu Thr Asp Phe Ile Leu Ala			
	195	200	205
att ttt att ctg ctg ggg cca ctc tct gtc act ggg gct tcc tat atg			672
Ile Phe Ile Leu Leu Gly Pro Leu Ser Val Thr Gly Ala Ser Tyr Met			
	210	215	220
gcc atc aca ggt gca gtg atg cgc atc ccc tca gct gct ggc cgc cat			720
Ala Ile Thr Gly Ala Val Met Arg Ile Pro Ser Ala Ala Gly Arg His			
	225	230	235
aag gcc ttt tca acc tgt gcc tcc cac ctc act gtt gtg att atc ttc			768
Lys Ala Phe Ser Thr Cys Ala Ser His Leu Thr Val Val Ile Ile Phe			
	245	250	255
tat gca gcc agt att ttc atc tat gcc agg cct aag gca ctc tca gct			816
Tyr Ala Ala Ser Ile Phe Ile Tyr Ala Arg Pro Lys Ala Leu Ser Ala			
	260	265	270
ttt gac acc aac aag ctg gtc tct gta ctc tac gct gtc att gta cca			864
Phe Asp Thr Asn Lys Leu Val Ser Val Leu Tyr Ala Val Ile Val Pro			

275	280	285	
ttg ctc aat ccc atc atc tac tgc ttg cgc aat caa gaa gtc aaa aaa Leu Leu Asn Pro Ile Ile Tyr Cys Leu Arg Asn Gln Glu Val Lys Lys			912
290	295	300	
gcc cta cgt cgc act ctg cac ctg gcc caa ggc cag gac gcc aat acc Ala Leu Arg Arg Thr Leu His Leu Ala Gln Gly Gln Asp Ala Asn Thr			960
305	310	315	320
aag aaa tcc agc aga gat ggt tag Lys Lys Ser Ser Arg Asp Gly			984
325			

<210> 14
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 14

Met	Glu	Arg	Arg	Asn	His	Thr	Gly	Arg	Val	Ser	Glu	Phe	Val	Leu	Leu
1				5				10						15	

Gly	Phe	Pro	Ala	Pro	Ala	Pro	Leu	Arg	Ala	Leu	Leu	Phe	Phe	Leu	Ser
		20						25					30		

Leu	Leu	Ala	Tyr	Val	Leu	Val	Leu	Thr	Glu	Asn	Ile	Leu	Ile	Ile	Thr
		35						40						45	

Ala	Ile	Arg	Asn	His	Pro	Thr	Leu	His	Lys	Pro	Met	Tyr	Phe	Phe	Leu
		50						55				60			

Ala Asn Met Ser Phe Leu Glu Ile Trp Tyr Val Thr Val Thr Ile Pro
65 70 75 80

Lys Met Leu Ala Gly Phe Ile Gly Ser Glu Glu Asn His Gly Gln Leu
85 90 95

Ile Ser Phe Glu Ala Cys Met Thr Gln Leu Tyr Phe Phe Leu Gly Leu
100 105 110

Gly Cys Thr Glu Cys Val Leu Leu Ala Val Met Ala Tyr Asp Arg Tyr
115 120 125

Val Ala Ile Cys His Pro Leu His Tyr Pro Val Ile Val Ser Ser Arg
130 135 140

Leu Cys Val Gln Met Ala Ala Gly Ser Trp Ala Gly Gly Phe Gly Ile
145 150 155 160

Ser Met Val Lys Val Phe Leu Ile Ser Arg Leu Ser Tyr Cys Gly Pro
165 170 175

Asn Thr Ile Asn His Phe Phe Cys Asp Val Ser Pro Leu Leu Asn Leu
180 185 190

Ser Cys Thr Asp Met Ser Thr Ala Glu Leu Thr Asp Phe Ile Leu Ala
195 200 205

Ile Phe Ile Leu Leu Gly Pro Leu Ser Val Thr Gly Ala Ser Tyr Met
210 215 220

Ala Ile Thr Gly Ala Val Met Arg Ile Pro Ser Ala Ala Gly Arg His
225 230 235 240

Lys Ala Phe Ser Thr Cys Ala Ser His Leu Thr Val Val Ile Ile Phe
245 250 255

Tyr Ala Ala Ser Ile Phe Ile Tyr Ala Arg Pro Lys Ala Leu Ser Ala
260 265 270

Phe Asp Thr Asn Lys Leu Val Ser Val Leu Tyr Ala Val Ile Val Pro
275 280 285

Leu Leu Asn Pro Ile Ile Tyr Cys Leu Arg Asn Gln Glu Val Lys Lys
290 295 300

Ala Leu Arg Arg Thr Leu His Leu Ala Gln Gly Gln Asp Ala Asn Thr
305 310 315 320

Lys Lys Ser Ser Arg Asp Gly
325

<210> 15

<211> 1325

<212> DNA

<213> Mus musculus

<300>

<308> AF121972

<309> 1999-04-25

<313> (1).. (1325)

<220>

<221> CDS

<222> (138).. (1112)

<400> 15

aacacactca aatcaaaata atattggatt ggttccatct ggtttcagaa tactottgtg 60

tttccttgta gaacttaagt ttgacactca taaaaacott cagacatatt gaaagtaagg 120

gaattgggat taaactc atg tct ctt ttt ccc caa aga aat tta gat gcc 170

Met Ser Leu Phe Pro Gln Arg Asn Leu Asp Ala

1 5 10

atg aac aga tca gca gca cat gta acc gaa ttt gtt ctc ttg gga ttt 218

Met Asn Arg Ser Ala Ala His Val Thr Glu Phe Val Leu Leu Gly Phe

15 20 25

cct ggt tcc tgg aag ata cag att ttc ctc ttc gtg ttg ttt ttg gtg 266

Pro Gly Ser Trp Lys Ile Gln Ile Phe Leu Phe Val Leu Phe Leu Val

30 35 40

ttt tat gtc ttg aca ttg ttg gga aat gga gcc atc atc tgt gca gta 314

Phe Tyr Val Leu Thr Leu Leu Gly Asn Gly Ala Ile Ile Cys Ala Val

45 50 55

aga tgt gac tca cgt cta cat acc ccc atg tac ttc ctc ctg gga aat 362

Arg Cys Asp Ser Arg Leu His Thr Pro Met Tyr Phe Leu Leu Gly Asn

60	65	70	75	
ttt tcc ttc ctt gaa atc tgg tat gtt tcc tcc act att cct aac ata				410
Phe Ser Phe Leu Glu Ile Trp Tyr Val Ser Ser Thr Ile Pro Asn Ile				
80	85	90		
cta gcc aac att ctg tct aag acc aag gcc atc tca ttt tca ggg tgc				458
Leu Ala Asn Ile Leu Ser Lys Thr Lys Ala Ile Ser Phe Ser Gly Cys				
95	100	105		
ttc ctg cag ttc tat ttc ttc ttt tca ctg ggt aca act gaa tgt ctc				506
Phe Leu Gln Phe Tyr Phe Phe Phe Ser Leu Gly Thr Thr Glu Cys Leu				
110	115	120		
ttc ctg gca gta atg gct tat gat agg tac ctg gcc att tgc cgc cca				554
Phe Leu Ala Val Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Cys Arg Pro				
125	130	135		
tta cat tac cct act atc atg act agg agg ctg tgt tgc att ctg gta				602
Leu His Tyr Pro Thr Ile Met Thr Arg Arg Leu Cys Cys Ile Leu Val				
140	145	150	155	
tcc tca tgc tgg ctc att gga ttt ctt ggg tac cca atc cct atc ttc				650
Ser Ser Cys Trp Leu Ile Gly Phe Leu Gly Tyr Pro Ile Pro Ile Phe				
160	165	170		
tcc att tcc cag ctt ccc ttc tgt ggt tct aat atc att gat cac ttc				698
Ser Ile Ser Gln Leu Pro Phe Cys Gly Ser Asn Ile Ile Asp His Phe				
175	180	185		
ctc tgt gac atg gac cca ttg atg gct ttg tcc tgt gcc cca gct cct				746
Leu Cys Asp Met Asp Pro Leu Met Ala Leu Ser Cys Ala Pro Ala Pro				
190	195	200		
att act gaa ttt att ttt tat gcc caa agt tcc ttt gtc ctc ttt ttc				794
Ile Thr Glu Phe Ile Phe Tyr Ala Gln Ser Ser Phe Val Leu Phe Phe				

205	210	215	
act att gca tac att ctt ogg tcc tat att ttg ttg ctc agg gct gtt			842
Thr Ile Ala Tyr Ile Leu Arg Ser Tyr Ile Leu Leu Leu Arg Ala Val			
220	225	230	235
ttt cag gtt cct tct gca gct ggc cga cga aaa gcc ttc tct acc tgt			890
Phe Gln Val Pro Ser Ala Ala Gly Arg Arg Lys Ala Phe Ser Thr Cys			
	240	245	250
ggc tcc cat tta gtt gtg gtg tca ctc ttc tat ggt aca gta atg gta			938
Gly Ser His Leu Val Val Val Ser Leu Phe Tyr Gly Thr Val Met Val			
	255	260	265
atg tat gtg agt cct aca tat ggc att cca att ttg atg cag aag atc			986
Met Tyr Val Ser Pro Thr Tyr Gly Ile Pro Ile Leu Met Gln Lys Ile			
	270	275	280
ctt aca ctt gta tac tct gta atg act cct ctc ttt aat cct ctg att			1034
Leu Thr Leu Val Tyr Ser Val Met Thr Pro Leu Phe Asn Pro Leu Ile			
	285	290	295
tat agc ctt cgt aac aag gac atg aaa ctt gct ctg aga aat gtt ttg			1082
Tyr Ser Leu Arg Asn Lys Asp Met Lys Leu Ala Leu Arg Asn Val Leu			
300	305	310	315
tta gga atg aga att gtc aaa aat atg taa ttcaaagctg tttcatactc			1132
Leu Gly Met Arg. Ile Val Lys Asn Met			
	320		
acatgttcta ataaagaaaa aactggagat gaatcaattc attcagttgt ctttaccctt			1192
tgttctatgt ttttgagaca ctgtctcatg tggccctggc tagcctcaaa ctcatctct			1252
agccaaggat gacottgcaa agatcactta tgtatactct catatcatct gccaatagtg			1312

ataccttgac ctc

1325

<210> 16

<211> 324

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 16

Met Ser Leu Phe Pro Gln Arg Asn Leu Asp Ala Met Asn Arg Ser Ala
1 5 10 15

Ala His Val Thr Glu Phe Val Leu Leu Gly Phe Pro Gly Ser Trp Lys
20 25 30

Ile Gln Ile Phe Leu Phe Val Leu Phe Leu Val Phe Tyr Val Leu Thr
35 40 45

Leu Leu Gly Asn Gly Ala Ile Ile Cys Ala Val Arg Cys Asp Ser Arg
50 55 60

Leu His Thr Pro Met Tyr Phe Leu Leu Gly Asn Phe Ser Phe Leu Glu
65 70 75 80

Ile Trp Tyr Val Ser Ser Thr Ile Pro Asn Ile Leu Ala Asn Ile Leu
85 90 95

Ser Lys Thr Lys Ala Ile Ser Phe Ser Gly Cys Phe Leu Gln Phe Tyr

100 105 110

Phe Phe Phe Ser Leu Gly Thr Thr Glu Cys Leu Phe Leu Ala Val Met
115 120 125

Ala Tyr Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Cys Arg Pro Leu His Tyr Pro Thr
130 135 140

Ile Met Thr Arg Arg Leu Cys Cys Ile Leu Val Ser Ser Cys Trp Leu
145 150 155 160

Ile Gly Phe Leu Gly Tyr Pro Ile Pro Ile Phe Ser Ile Ser Gln Leu
165 170 175

Pro Phe Cys Gly Ser Asn Ile Ile Asp His Phe Leu Cys Asp Met Asp
180 185 190

Pro Leu Met Ala Leu Ser Cys Ala Pro Ala Pro Ile Thr Glu Phe Ile
195 200 205

Phe Tyr Ala Gln Ser Ser Phe Val Leu Phe Phe Thr Ile Ala Tyr Ile
210 215 220

Leu Arg Ser Tyr Ile Leu Leu Leu Arg Ala Val Phe Gln Val Pro Ser
225 230 235 240

Ala Ala Gly Arg Arg Lys Ala Phe Ser Thr Cys Gly Ser His Leu Val

245 250 255

Val Val Ser Leu Phe Tyr Gly Thr Val Met Val Met Tyr Val Ser Pro
260 265 270

Thr Tyr Gly Ile Pro Ile Leu Met Gln Lys Ile Leu Thr Leu Val Tyr
275 280 285

Ser Val Met Thr Pro Leu Phe Asn Pro Leu Ile Tyr Ser Leu Arg Asn
290 295 300

Lys Asp Met Lys Leu Ala Leu Arg Asn Val Leu Leu Gly Met Arg Ile
305 310 315 320

Val Lys Asn Met

<210> 17
<211> 1134
<212> DNA
<213> Mus musculus

<300>
<308> AF121980
<309> 1999-04-25
<313> (1)..(1134)

<220>
<221> misc_feature

<222> (99)..(99)

<223> n is a, c, g, or t

<220>

<221> CDS

<222> (106)..(1056)

<400> 17

ccagtccagc ctggtaggct gggcaggtcc tacaggtcctt tcagggactg aacccgcat 60

cctgcccctc ccctctccct ggagcctccc tagccctcng gcgtc atg ttg ggt tgg 117

Met Leu Gly Trp

1

agc aat ggc acc tac aat gag tcc tac acc agc ttc ctc ctc atg ggc 165

Ser Asn Gly Thr Tyr Asn Glu Ser Tyr Thr Ser Phe Leu Leu Met Gly

5 10 15 20

ttc cca ggg atg cag gaa gcc aga gcc ctc ctg gtg ctg ccc ttc ctc 213

Phe Pro Gly Met Gln Glu Ala Arg Ala Leu Leu Val Leu Pro Phe Leu

25 30 35

agc ctc tac ctg gtg atc ctc ttc acc aat gcc ctg gtc atc cac acg 261

Ser Leu Tyr Leu Val Ile Leu Phe Thr Asn Ala Leu Val Ile His Thr

40 45 50

gtg gca tcc cag cgc agc ctg cac cag ccc atg tac ctg ctc att gcc 309

Val Ala Ser Gln Arg Ser Leu His Gln Pro Met Tyr Leu Leu Ile Ala

55 60 65

ctg ctc ctg gct gtc aat atc tgt gct gcc acc acg gtg ctg ccc ccc 357

Leu Leu Leu Ala Val Asn Ile Cys Ala Ala Thr Thr Val Leu Pro Pro

70 75 80

atg ctc ttc agc ttc tcc aca cgc ttc aac cgc atc tcc ctc cct cga 405

Met Leu Phe Ser Phe Ser Thr Arg Phe Asn Arg Ile Ser Leu Pro Arg

85	90	95	100	
tgc ttg gga cag atg ttc tgc atc tac ttt ctg gtt tct atg gac tgc				453
Cys Leu Gly Gln Met Phe Cys Ile Tyr Phe Leu Val Ser Met Asp Cys				
	105	110	115	
aac atc ctc ctg gtc atg gct cta gat cgc tat gtg gct atc tgc tac				501
Asn Ile Leu Leu Val Met Ala Leu Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Tyr				
	120	125	130	
cct ctc cgc tac cca gaa ata gtg aca gga cag tta ctg gct ggt ctg				549
Pro Leu Arg Tyr Pro Glu Ile Val Thr Gly Gln Leu Leu Ala Gly Leu				
	135	140	145	
gtg gtg ttg gca gtc acc agg agc aca ago att gtt gct cca gtg gtg				597
Val Val Leu Ala Val Thr Arg Ser Thr Ser Ile Val Ala Pro Val Val				
	150	155	160	
gtg ctg gcc tcg cgg gtt cgc ttc tgc cgc tca gat gtg atc cgc cac				645
Val Leu Ala Ser Arg Val Arg Phe Cys Arg Ser Asp Val Ile Arg His				
165	170	175	180	
ttt gcc tgt gag cac atg gcc ctg atg aag ctc tcc tgt gga gac atc				693
Phe Ala Cys Glu His Met Ala Leu Met Lys Leu Ser Cys Gly Asp Ile				
	185	190	195	
tcg ctg aat aaa acg gcg gga ctc att att cga acc ttt aat aga gtc				741
Ser Leu Asn Lys Thr Ala Gly Leu Ile Ile Arg Thr Phe Asn Arg Val				
	200	205	210	
ctg gat atg ctc ctt cta ggc acc tcc tac tcc cgc atc atc cat gct				789
Leu Asp Met Leu Leu Leu Gly Thr Ser Tyr Ser Arg Ile Ile His Ala				
	215	220	225	
gcc ttc agg atc tca tca ggt gga gca cgg tcc aaa gcc ctg aac acc				837
Ala Phe Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ala Arg Ser Lys Ala Leu Asn Thr				

230	235	240	
tgt ggt tcc cac ctg ctg gtc atc ttc acc gtc tac tcc tcc acc atg			885
Cys Gly Ser His Leu Leu Val Ile Phe Thr Val Tyr Ser Ser Thr Met			
245	250	255	260
tcc tca tcc att gtc tac cgt gtg gct cgc act gcc tcc caa gat gtg			933
Ser Ser Ser Ile Val Tyr Arg Val Ala Arg Thr Ala Ser Gln Asp Val			
	265	270	275
cac aac ctg ctc agt gct ttc tat ctg ttg ctc ccg tgt ctg gtc aac			981
His Asn Leu Leu Ser Ala Phe Tyr Leu Leu Leu Pro Cys Leu Val Asn			
	280	285	290
ccc atc atc tac ggg gcc aga acc aag gaa atc agg cag cac ctg gta			1029
Pro Ile Ile Tyr Gly Ala Arg Thr Lys Glu Ile Arg Gln His Leu Val			
	295	300	305
agg tca ttc ctg agt gca ggc ccc tga ctctcctatg atcagtcctg			1076
Arg Ser Phe Leu Ser Ala Gly Pro			
	310	315	
gttggtccct cagtattcct ggtgaaactg aggaaggaag aaatggagtc agagggac			1134

<210> 18

<211> 316

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 18

Met	Leu	Gly	Trp	Ser	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asn	Glu	Ser	Tyr	Thr	Ser	Phe
1				5					10					15	

Leu Leu Met Gly Phe Pro Gly Met Gln Glu Ala Arg Ala Leu Leu Val
20 25 30

Leu Pro Phe Leu Ser Leu Tyr Leu Val Ile Leu Phe Thr Asn Ala Leu
35 40 45

Val Ile His Thr Val Ala Ser Gln Arg Ser Leu His Gln Pro Met Tyr
50 55 60

Leu Leu Ile Ala Leu Leu Leu Ala Val Asn Ile Cys Ala Ala Thr Thr
65 70 75 80

Val Leu Pro Pro Met Leu Phe Ser Phe Ser Thr Arg Phe Asn Arg Ile
85 90 95

Ser Leu Pro Arg Cys Leu Gly Gln Met Phe Cys Ile Tyr Phe Leu Val
100 105 110

Ser Met Asp Cys Asn Ile Leu Leu Val Met Ala Leu Asp Arg Tyr Val
115 120 125

Ala Ile Cys Tyr Pro Leu Arg Tyr Pro Glu Ile Val Thr Gly Gln Leu
130 135 140

Leu Ala Gly Leu Val Val Leu Ala Val Thr Arg Ser Thr Ser Ile Val
145 150 155 160

Ala Pro Val Val Val Leu Ala Ser Arg Val Arg Phe Cys Arg Ser Asp
165 170 175

Val Ile Arg His Phe Ala Cys Glu His Met Ala Leu Met Lys Leu Ser
180 185 190

Cys Gly Asp Ile Ser Leu Asn Lys Thr Ala Gly Leu Ile Ile Arg Thr
195 200 205

Phe Asn Arg Val Leu Asp Met Leu Leu Leu Gly Thr Ser Tyr Ser Arg
210 215 220

Ile Ile His Ala Ala Phe Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ala Arg Ser Lys
225 230 235 240

Ala Leu Asn Thr Cys Gly Ser His Leu Leu Val Ile Phe Thr Val Tyr
245 250 255

Ser Ser Thr Met Ser Ser Ser Ile Val Tyr Arg Val Ala Arg Thr Ala
260 265 270

Ser Gln Asp Val His Asn Leu Leu Ser Ala Phe Tyr Leu Leu Leu Pro
275 280 285

Cys Leu Val Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Ala Arg Thr Lys Glu Ile Arg
290 295 300

Gln His Leu Val Arg Ser Phe Leu Ser Ala Gly Pro
 305 310 315

<210> 19
 <211> 1421
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<300>
 <308> AF121976
 <309> 1999-12-25
 <313> (1).. (1421)

<220>
 <221> CDS
 <222> (291).. (1310)

<400> 19
 agaaagattt caggagtcct taaagacggc acagaaaacc ggtacagact gcaccattca 60
 gctgaaagcc agacgtaaca gcaccacggt ggtggtgaac acggtgggct cagagaatcc 120
 ggataagcct gcttttttat actaagttgg cattataaaa aagcattgct tatcaatttg 180
 ttgcaacgaa caggtcacta tcagtcaaaa taaaatcatt atttgatttc aattttgtcc 240
 cactccctgc ctctgtcatc acgatactgt gatgccatgg tgtccgactt atg ccc 296
 Met Pro
 1
 gag aag atg ttg agc aaa ctt atc gct tat ctg ctt ctc ata gag tct 344
 Glu Lys Met Leu Ser Lys Leu Ile Ala Tyr Leu Leu Leu Ile Glu Ser
 5 10 15

tgc aga caa act gcg caa ctc gtg aaa ggt agg cgg atc tgg gtc gac	392
Cys Arg Gln Thr Ala Gln Leu Val Lys Gly Arg Arg Ile Trp Val Asp	
20 25 30	
tct agg cct cac tgg cct aat acg act cac tat agg gag ctc gag gat	440
Ser Arg Pro His Trp Pro Asn Thr Thr His Tyr Arg Glu Leu Glu Asp	
35 40 45 50	
cag cat gtt tgg att gct att ccc ttc tgc tcc atg tac atc ctt gct	488
Gln His Val Trp Ile Ala Ile Pro Phe Cys Ser Met Tyr Ile Leu Ala	
55 60 65	
ctg gtt gga aat ggt acc atc ctc tat atc att ata aca gac agg gct	536
Leu Val Gly Asn Gly Thr Ile Leu Tyr Ile Ile Ile Thr Asp Arg Ala	
70 75 80	
ctc cat gag cca atg tac ctc ttc ttg tgt ctg ctt tct atc act gat	584
Leu His Glu Pro Met Tyr Leu Phe Leu Cys Leu Leu Ser Ile Thr Asp	
85 90 95	
ctg gtt ctc tgt tca aca aca ttg cct aaa atg ctg gca ata ttc tgg	632
Leu Val Leu Cys Ser Thr Thr Leu Pro Lys Met Leu Ala Ile Phe Trp	
100 105 110	
ctc aga tcc cat gtc att tcc tac cat ggc tgc ctc act cag atg ttt	680
Leu Arg Ser His Val Ile Ser Tyr His Gly Cys Leu Thr Gln Met Phe	
115 120 125 130	
ttt gta cat gca gtc ttt gcc aca gag tca gct gtt ctg ctg gcc atg	728
Phe Val His Ala Val Phe Ala Thr Glu Ser Ala Val Leu Leu Ala Met	
135 140 145	
gct ttt gat cga tat gtt gct atc tgc aga cca ctc cac tat aca tcc	776
Ala Phe Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Arg Pro Leu His Tyr Thr Ser	
150 155 160	

atc ctc aat gct gtt gta att ggg aag att ggc ctg gca tgc gtg act	824
Ile Leu Asn Ala Val Val Ile Gly Lys Ile Gly Leu Ala Cys Val Thr	
165 170 175	
cgT ggc ctt ctc ttt gtc ttc ccc ttt gtc att ctc att gaa cgt tta	872
Arg Gly Leu Leu Phe Val Phe Pro Phe Val Ile Leu Ile Glu Arg Leu	
180 185 190	
ccc ttc tgt gga cat cat ata atc cct cac act tac tgt gag cac atg	920
Pro Phe Cys Gly His His Ile Ile Pro His Thr Tyr Cys Glu His Met	
195 200 205 210	
ggc ata gcc aag ctc gcc tgt gcc agc atc aag cct aac acc atc tat	968
Gly Ile Ala Lys Leu Ala Cys Ala Ser Ile Lys Pro Asn Thr Ile Tyr	
215 220 225	
ggt ctt act gta gca ctt tca gtc act ggc atg gat gtg gtc ctc att	1016
Gly Leu Thr Val Ala Leu Ser Val Thr Gly Met Asp Val Val Leu Ile	
230 235 240	
gca acc tcc tac atc ctg att ctg cag gcc gtg ctg cga ctg ccc tca	1064
Ala Thr Ser Tyr Ile Leu Ile Leu Gln Ala Val Leu Arg Leu Pro Ser	
245 250 255	
aag gat gcc cag ttc cga gca ttc agc aca tgt gga gcc cac att tgt	1112
Lys Asp Ala Gln Phe Arg Ala Phe Ser Thr Cys Gly Ala His Ile Cys	
260 265 270	
gta att ctt gtc ttc tat atc ccc gca ttc ttt tca ttt ttc act cac	1160
Val Ile Leu Val Phe Tyr Ile Pro Ala Phe Phe Ser Phe Phe Thr His	
275 280 285 290	
cgc ttt ggt cac cac gtg cct cct cag gta cac atc ata ctt gca aat	1208
Arg Phe Gly His His Val Pro Pro Gln Val His Ile Ile Leu Ala Asn	
295 300 305	

ctt tat ctc ctt gtg cct cct gtt ctc aac ccc cta gtc tat ggc atc 1256
 Leu Tyr Leu Leu Val Pro Pro Val Leu Asn Pro Leu Val Tyr Gly Ile
 310 315 320

aat acc aaa caa atc cgc ctg aga ata ctt gac ttt ttt gta aag aga 1304
 Asn Thr Lys Gln Ile Arg Leu Arg Ile Leu Asp Phe Phe Val Lys Arg
 325 330 335

agg tga caataatctc cacatataacc aaaggctaata gagttcctgg ctttagtttg 1360
 Arg

ctgottctgc tgatctcagt aagtcagtgat atgtacattt aagattttga gatctagagc 1420

a

1421

<210> 20

<211> 339

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 20

Met Pro Glu Lys Met Leu Ser Lys Leu Ile Ala Tyr Leu Leu Leu Ile
 1 5 10 15

Glu Ser Cys Arg Gln Thr Ala Gln Leu Val Lys Gly Arg Arg Ile Trp
 20 25 30

Val Asp Ser Arg Pro His Trp Pro Asn Thr Thr His Tyr Arg Glu Leu
 35 40 45

Glu Asp Gln His Val Trp Ile Ala Ile Pro Phe Cys Ser Met Tyr Ile
50 55 60

Leu Ala Leu Val Gly Asn Gly Thr Ile Leu Tyr Ile Ile Ile Thr Asp
65 70 75 80

Arg Ala Leu His Glu Pro Met Tyr Leu Phe Leu Cys Leu Leu Ser Ile
85 90 95

Thr Asp Leu Val Leu Cys Ser Thr Thr Leu Pro Lys Met Leu Ala Ile
100 105 110

Phe Trp Leu Arg Ser His Val Ile Ser Tyr His Gly Cys Leu Thr Gln
115 120 125

Met Phe Phe Val His Ala Val Phe Ala Thr Glu Ser Ala Val Leu Leu
130 135 140

Ala Met Ala Phe Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Arg Pro Leu His Tyr
145 150 155 160

Thr Ser Ile Leu Asn Ala Val Val Ile Gly Lys Ile Gly Leu Ala Cys
165 170 175

Val Thr Arg Gly Leu Leu Phe Val Phe Pro Phe Val Ile Leu Ile Glu
180 185 190

Arg Leu Pro Phe Cys Gly His His Ile Ile Pro His Thr Tyr Cys Glu
195 200 205

His Met Gly Ile Ala Lys Leu Ala Cys Ala Ser Ile Lys Pro Asn Thr
210 215 220

Ile Tyr Gly Leu Thr Val Ala Leu Ser Val Thr Gly Met Asp Val Val
225 230 235 240

Leu Ile Ala Thr Ser Tyr Ile Leu Ile Leu Gln Ala Val Leu Arg Leu
245 250 255

Pro Ser Lys Asp Ala Gln Phe Arg Ala Phe Ser Thr Cys Gly Ala His
260 265 270

Ile Cys Val Ile Leu Val Phe Tyr Ile Pro Ala Phe Phe Ser Phe Phe
275 280 285

Thr His Arg Phe Gly His His Val Pro Pro Gln Val His Ile Ile Leu
290 295 300

Ala Asn Leu Tyr Leu Leu Val Pro Pro Val Leu Asn Pro Leu Val Tyr
305 310 315 320

Gly Ile Asn Thr Lys Gln Ile Arg Leu Arg Ile Leu Asp Phe Phe Val
325 330 335

Lys Arg Arg

<210> 21
 <211> 930
 <212> DNA
 <213> M. musculus

<300>
 <308> X92969
 <309> 1996-07-01
 <313> (1).. (930)

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (930)

<400> 21
 atg cag aga aat aac ttc act gaa gtg ata gag ttc gtc ttc ctg gga 48
 Met Gln Arg Asn Asn Phe Thr Glu Val Ile Glu Phe Val Phe Leu Gly
 1 5 10 15
 ttc tcc agc ttt gga aag cat cag ata acc ctc ttt gtg gtt ttc cta 96
 Phe Ser Ser Phe Gly Lys His Gln Ile Thr Leu Phe Val Val Phe Leu
 20 25 30
 acc atc tac att tta act ctg gct ggc aac atc att ata gtg aca atc 144
 Thr Ile Tyr Ile Leu Thr Leu Ala Gly Asn Ile Ile Ile Val Thr Ile
 35 40 45
 aca cac ata gac cac cac ctt cac act ccc atg tac ttc ttt ctg agc 192
 Thr His Ile Asp His His Leu His Thr Pro Met Tyr Phe Phe Leu Ser
 50 55 60

atg ttg gca agc tca gag act gtg tac aca ctg gtc att gtc cca cga	240
Met Leu Ala Ser Ser Glu Thr Val Tyr Thr Leu Val Ile Val Pro Arg	
65 70 75 80	
atg ctt tcc agc ctg att ttt tac aac ctt ccc ata tcc ttg gca ggc	288
Met Leu Ser Ser Leu Ile Phe Tyr Asn Leu Pro Ile Ser Leu Ala Gly	
85 90 95	
tgc gca acc caa atg ttc ttt ttt gtc act ttg gcc acc aac aac tgc	336
Cys Ala Thr Gln Met Phe Phe Phe Val Thr Leu Ala Thr Asn Asn Cys	
100 105 110	
ttt ctg ctc aca gca atg ggt tat gat cgt tat gtg gct att tgt aat	384
Phe Leu Leu Thr Ala Met Gly Tyr Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Asn	
115 120 125	
cct ctg aga tat aca atc atc atg agc aag gga atg tgt gcc ttg ttg	432
Pro Leu Arg Tyr Thr Ile Ile Met Ser Lys Gly Met Cys Ala Leu Leu	
130 135 140	
gtc tgt ggg tct tta ggc act ggc ctg gtt atg gca gtt ctt cat gtg	480
Val Cys Gly Ser Leu Gly Thr Gly Leu Val Met Ala Val Leu His Val	
145 150 155 160	
cca gcc atg ttc cat ttg ccc ttt tgt ggc acg gtg gtg gag cac ttt	528
Pro Ala Met Phe His Leu Pro Phe Cys Gly Thr Val Val Glu His Phe	
165 170 175	
ttc tgt gac ata tac cca gta atg aag ctt tct tgt gtt gat acc act	576
Phe Cys Asp Ile Tyr Pro Val Met Lys Leu Ser Cys Val Asp Thr Thr	
180 185 190	
gtc aat gag ata atc aat tat ggt gta agt tca ttt gta att ctt gtg	624
Val Asn Glu Ile Ile Asn Tyr Gly Val Ser Ser Phe Val Ile Leu Val	
195 200 205	

ccc ata ggg ctg ata ttt atc tcc tat gtg ctc att gtc tct tcc atc 672
 Pro Ile Gly Leu Ile Phe Ile Ser Tyr Val Leu Ile Val Ser Ser Ile
 210 215 220

ctt aaa att gtg tcc act gaa ggc cag aag aaa gcc ttt gcc acc tgt 720
 Leu Lys Ile Val Ser Thr Glu Gly Gln Lys Lys Ala Phe Ala Thr Cys
 225 230 235 240

gcc tot cat ctc act gtg gtc att gtc cac tat gcc tgt gcc tcc att 768
 Ala Ser His Leu Thr Val Val Ile Val His Tyr Gly Cys Ala Ser Ile
 245 250 255

gcc tac ctc aaa ccc aaa tca gaa agt tca gta gaa aaa gac ctt ctt 816
 Ala Tyr Leu Lys Pro Lys Ser Glu Ser Ser Val Glu Lys Asp Leu Leu
 260 265 270

ctc tot gtg acc tac act atc atc act ccc ttg ctg aac cct gtt gtc 864
 Leu Ser Val Thr Tyr Thr Ile Ile Thr Pro Leu Leu Asn Pro Val Val
 275 280 285

tac agc ctc agg aac aaa gaa gtc aaa gat gct cta tgc aga gct gtg 912
 Tyr Ser Leu Arg Asn Lys Glu Val Lys Asp Ala Leu Cys Arg Ala Val
 290 295 300

ggc aga aac act tot taa 930
 Gly Arg Asn Thr Ser
 305

<210> 22

<211> 309

<212> PRT

<213> M. musculus

<400> 22

Met Gln Arg Asn Asn Phe Thr Glu Val Ile Glu Phe Val Phe Leu Gly
1 5 10 15

Phe Ser Ser Phe Gly Lys His Gln Ile Thr Leu Phe Val Val Phe Leu
20 25 30

Thr Ile Tyr Ile Leu Thr Leu Ala Gly Asn Ile Ile Ile Val Thr Ile
35 40 45

Thr His Ile Asp His His Leu His Thr Pro Met Tyr Phe Phe Leu Ser
50 55 60

Met Leu Ala Ser Ser Glu Thr Val Tyr Thr Leu Val Ile Val Pro Arg
65 70 75 80

Met Leu Ser Ser Leu Ile Phe Tyr Asn Leu Pro Ile Ser Leu Ala Gly
85 90 95

Cys Ala Thr Gln Met Phe Phe Phe Val Thr Leu Ala Thr Asn Asn Cys
100 105 110

Phe Leu Leu Thr Ala Met Gly Tyr Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Asn
115 120 125

Pro Leu Arg Tyr Thr Ile Ile Met Ser Lys Gly Met Cys Ala Leu Leu
130 135 140

Val Cys Gly Ser Leu Gly Thr Gly Leu Val Met Ala Val Leu His Val
145 150 155 160

Pro Ala Met Phe His Leu Pro Phe Cys Gly Thr Val Val Glu His Phe
165 170 175

Phe Cys Asp Ile Tyr Pro Val Met Lys Leu Ser Cys Val Asp Thr Thr
180 185 190

Val Asn Glu Ile Ile Asn Tyr Gly Val Ser Ser Phe Val Ile Leu Val
195 200 205

Pro Ile Gly Leu Ile Phe Ile Ser Tyr Val Leu Ile Val Ser Ser Ile
210 215 220

Leu Lys Ile Val Ser Thr Glu Gly Gln Lys Lys Ala Phe Ala Thr Cys
225 230 235 240

Ala Ser His Leu Thr Val Val Ile Val His Tyr Gly Cys Ala Ser Ile
245 250 255

Ala Tyr Leu Lys Pro Lys Ser Glu Ser Ser Val Glu Lys Asp Leu Leu
260 265 270

Leu Ser Val Thr Tyr Thr Ile Ile Thr Pro Leu Leu Asn Pro Val Val
275 280 285

Tyr Ser Leu Arg Asn Lys Glu Val Lys Asp Ala Leu Cys Arg Ala Val
 290 295 300

Gly Arg Asn Thr Ser
 305

<210> 23
 <211> 957
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<300>
 <308> AB061229
 <309> 2001-09-07
 <313> (1).. (957)

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (957)

<400> 23
 atg ata ctg tct gaa aaa aac aat agt ggg att att ttc acc ctc ttg 48
 Met Ile Leu Ser Glu Lys Asn Asn Ser Gly Ile Ile Phe Thr Leu Leu
 1 5 10 15
 ggc ttc tca gat tat cct gac ctt aaa gtc cct ctc ttc ttg gtg ttt 96
 Gly Phe Ser Asp Tyr Pro Asp Leu Lys Val Pro Leu Phe Leu Val Phe
 20 25 30
 ctc gtc att tac agc atc act gtg gta gga aat att ggt atg atc ctc 144
 Leu Val Ile Tyr Ser Ile Thr Val Val Gly Asn Ile Gly Met Ile Leu
 35 40 45

gtg atc aga att aat ccc caa ctg cac tcc cct atg tac ttc ttc ctc	192
Val Ile Arg Ile Asn Pro Gln Leu His Ser Pro Met Tyr Phe Phe Leu	
50 55 60	
agc cac ctc tcc ttt gtg gat ttc tgc tat tct tcg atc att gct ccc	240
Ser His Leu Ser Phe Val Asp Phe Cys Tyr Ser Ser Ile Ile Ala Pro	
65 70 75 80	
aag atg ctg gtg aac ctt gtt gca aaa gac ata acc att tca ttt gta	288
Lys Met Leu Val Asn Leu Val Ala Lys Asp Ile Thr Ile Ser Phe Val	
85 90 95	
gaa tgc ata gta caa tat ttt tta ttt tgt gtc ttt gta gta act gaa	336
Glu Cys Ile Val Gln Tyr Phe Leu Phe Cys Val Phe Val Val Thr Glu	
100 105 110	
gcc ttt tta tta gtg gtt atg gca tat gac cga ttt gtg gct atc tgt	384
Ala Phe Leu Leu Val Val Met Ala Tyr Asp Arg Phe Val Ala Ile Cys	
115 120 125	
aac cct ctg ctc tac aca gta gcc atg tcc cag aaa ctc tgt atc aca	432
Asn Pro Leu Leu Tyr Thr Val Ala Met Ser Gln Lys Leu Cys Ile Thr	
130 135 140	
ctg gtg gtg gga tcc tac gca tgg ggg ttc aca tgt tcc ttg aca ctg	480
Leu Val Val Gly Ser Tyr Ala Trp Gly Phe Thr Cys Ser Leu Thr Leu	
145 150 155 160	
acg tgt tct act gtg caa tta tct ttt cat ggt gtc aat agg atc gat	528
Thr Cys Ser Thr Val Gln Leu Ser Phe His Gly Val Asn Arg Ile Asp	
165 170 175	
cac ttc ttc tgt gaa ctc tct tca ctg cta gcc ctt tct tcc tct gat	576
His Phe Phe Cys Glu Leu Ser Ser Leu Leu Ala Leu Ser Ser Ser Asp	
180 185 190	

act ctc atc agt caa tta ctg ctg ttt gtc ttt gcc aca ttt aat gct 624
 Thr Leu Ile Ser Gln Leu Leu Leu Phe Val Phe Ala Thr Phe Asn Ala
 195 200 205

gtc agc aca tta ctc ctt att ctg ttg tct tac ctg ttc att gtt gtc 672
 Val Ser Thr Leu Leu Leu Ile Leu Leu Ser Tyr Leu Phe Ile Val Val
 210 215 220

act gtt ctt aag atg cgt tca gcc agt ggg cgt cgt aag gct ttc tcc 720
 Thr Val Leu Lys Met Arg Ser Ala Ser Gly Arg Arg Lys Ala Phe Ser
 225 230 235 240

acc tgt gca tcc cat ctg gca gcc atc act atc ttc cat ggt acc att 768
 Thr Cys Ala Ser His Leu Ala Ala Ile Thr Ile Phe His Gly Thr Ile
 245 250 255

tta ttc ctt ttt tgt gtt ccc aac tct aag aat tcc agg ctc aca gtc 816
 Leu Phe Leu Phe Cys Val Pro Asn Ser Lys Asn Ser Arg Leu Thr Val
 260 265 270

aaa gtg ggc tct gtg ttt tac aca gtg gtg atc ccc atg ctt aac ccc 864
 Lys Val Gly Ser Val Phe Tyr Thr Val Val Ile Pro Met Leu Asn Pro
 275 280 285

ata atc tat agt ctg aga aat aag gat gtc caa gat act att aga aaa 912
 Ile Ile Tyr Ser Leu Arg Asn Lys Asp Val Gln Asp Thr Ile Arg Lys
 290 295 300

ata atg acc ctt atc tca tgt gtt aag aat gat aga cac aat taa 957
 Ile Met Thr Leu Ile Ser Cys Val Lys Asn Asp Arg His Asn
 305 310 315

<210> 24

<211> 318

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 24

Met Ile Leu Ser Glu Lys Asn Asn Ser Gly Ile Ile Phe Thr Leu Leu
1 5 10 15

Gly Phe Ser Asp Tyr Pro Asp Leu Lys Val Pro Leu Phe Leu Val Phe
20 25 30

Leu Val Ile Tyr Ser Ile Thr Val Val Gly Asn Ile Gly Met Ile Leu
35 40 45

Val Ile Arg Ile Asn Pro Gln Leu His Ser Pro Met Tyr Phe Phe Leu
50 55 60

Ser His Leu Ser Phe Val Asp Phe Cys Tyr Ser Ser Ile Ile Ala Pro
65 70 75 80

Lys Met Leu Val Asn Leu Val Ala Lys Asp Ile Thr Ile Ser Phe Val
85 90 95

Glu Cys Ile Val Gln Tyr Phe Leu Phe Cys Val Phe Val Val Thr Glu
100 105 110

Ala Phe Leu Leu Val Val Met Ala Tyr Asp Arg Phe Val Ala Ile Cys
115 120 125

Asn Pro Leu Leu Tyr Thr Val Ala Met Ser Gln Lys Leu Cys Ile Thr
130 135 140

Leu Val Val Gly Ser Tyr Ala Trp Gly Phe Thr Cys Ser Leu Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Ser Thr Val Gln Leu Ser Phe His Gly Val Asn Arg Ile Asp
165 170 175

His Phe Phe Cys Glu Leu Ser Ser Leu Leu Ala Leu Ser Ser Ser Asp
180 185 190

Thr Leu Ile Ser Gln Leu Leu Leu Phe Val Phe Ala Thr Phe Asn Ala
195 200 205

Val Ser Thr Leu Leu Leu Ile Leu Leu Ser Tyr Leu Phe Ile Val Val
210 215 220

Thr Val Leu Lys Met Arg Ser Ala Ser Gly Arg Arg Lys Ala Phe Ser
225 230 235 240

Thr Cys Ala Ser His Leu Ala Ala Ile Thr Ile Phe His Gly Thr Ile
245 250 255

Leu Phe Leu Phe Cys Val Pro Asn Ser Lys Asn Ser Arg Leu Thr Val
260 265 270

Lys Val Gly Ser Val Phe Tyr Thr Val Val Ile Pro Met Leu Asn Pro
 275 280 285

Ile Ile Tyr Ser Leu Arg Asn Lys Asp Val Gln Asp Thr Ile Arg Lys
 290 295 300

Ile Met Thr Leu Ile Ser Cys Val Lys Asn Asp Arg His Asn
 305 310 315

<210> 25
 <211> 1344
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<300>
 <308> AJ133424
 <309> 2003-02-01
 <313> (1).. (1344)

<220>
 <221> CDS
 <222> (61).. (1020)

<400> 25
 ggaggaagac aatgttgatg ctgattgctg agttcctgca ggtttcaaac cgaatgtacc 60
 atg gac aga tcc aat gag acc gcc ccc ctg tcc ggc ttc att ctc ctg 108
 Met Asp Arg Ser Asn Glu Thr Ala Pro Leu Ser Gly Phe Ile Leu Leu
 1 5 10 15
 ggc ctc tot gcc cac cca aag ctg gag aaa acc ttc ttc gtg ctc atc 156

Gly Leu Ser Ala His Pro Lys Leu Glu Lys Thr Phe Phe Val Leu Ile	
20 25 30	
ctg atg atg tac ctg gtg atc ctg ctg ggc aac ggc gtc ctc atc ctg	204
Leu Met Met Tyr Leu Val Ile Leu Leu Gly Asn Gly Val Leu Ile Leu	
35 40 45	
gtg agc atc ctc gac tcc cac ctg cac acg ccc atg tac ttc ttc ctg	252
Val Ser Ile Leu Asp Ser His Leu His Thr Pro Met Tyr Phe Phe Leu	
50 55 60	
ggg aac ctc tcc ttc ctg gac atc tgc tac act acc tcc tct gtc ccc	300
Gly Asn Leu Ser Phe Leu Asp Ile Cys Tyr Thr Thr Ser Ser Val Pro	
65 70 75 80	
ctc att ctg gac agc ttt ctg act ccc agg aag acc atc tcc ttc tcg	348
Leu Ile Leu Asp Ser Phe Leu Thr Pro Arg Lys Thr Ile Ser Phe Ser	
85 90 95	
ggc tgt gcc gtg cag atg ttt ctc tcc ttc gcc atg gga gcc acg gag	396
Gly Cys Ala Val Gln Met Phe Leu Ser Phe Ala Met Gly Ala Thr Glu	
100 105 110	
tgt gtg ctc ctg agt atg atg gcg ttt gat cgt tat gtg gcc atc tgc	444
Cys Val Leu Leu Ser Met Met Ala Phe Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys	
115 120 125	
aac ccc ctt aga tat cct gtg gtc atg aac aag gct gcc tat gtg ccc	492
Asn Pro Leu Arg Tyr Pro Val Val Met Asn Lys Ala Ala Tyr Val Pro	
130 135 140	
atg gct gcc agt tcc tgg gca ggt ggt atc act aat tct gta gtg cag	540
Met Ala Ala Ser Ser Trp Ala Gly Gly Ile Thr Asn Ser Val Val Gln	
145 150 155 160	
aca tct ttg gca atg cgg ctg ccc ttc tgt ggg gac aat gtc atc aat	588

Thr Ser Leu Ala Met Arg Leu Pro Phe Cys Gly Asp Asn Val Ile Asn	
165	170 175
cac ttc acc tgt gag atc ctg gca gtc ctg aaa ctg gcc tgt gct gac	636
His Phe Thr Cys Glu Ile Leu Ala Val Leu Lys Leu Ala Cys Ala Asp	
180	185 190
atc tcc atc aat gtc atc agc atg gtt gtg gcc aac atg atc ttc ttg	684
Ile Ser Ile Asn Val Ile Ser Met Val Val Ala Asn Met Ile Phe Leu	
195	200 205
gca gtc cca gtc ctc ttc atc ttt gtc tcc tat gtc ttc atc ctt gtg	732
Ala Val Pro Val Leu Phe Ile Phe Val Ser Tyr Val Phe Ile Leu Val	
210	215 220
aca atc ctg agg atc ccc tct gct gag ggg agg aag aag gcc ttc tcc	780
Thr Ile Leu Arg Ile Pro Ser Ala Glu Gly Arg Lys Lys Ala Phe Ser	
225	230 235 240
acc tgc tct gcc cac ctc acc gtg gta ctt gtc ttc tat gga acc atc	828
Thr Cys Ser Ala His Leu Thr Val Val Leu Val Phe Tyr Gly Thr Ile	
245	250 255
ctc ttc atg tac ggg aag ccc aag tcc aag gac cca ctg ggg gca gac	876
Leu Phe Met Tyr Gly Lys Pro Lys Ser Lys Asp Pro Leu Gly Ala Asp	
260	265 270
aag cag gac ctt gca gac aag ctc atc tcc ctc ttc tat gga gtg gtg	924
Lys Gln Asp Leu Ala Asp Lys Leu Ile Ser Leu Phe Tyr Gly Val Val	
275	280 285
acc ccc atg cta aac ccc atc atc tac agc ttg aga aac aag gac gtg	972
Thr Pro Met Leu Asn Pro Ile Ile Tyr Ser Leu Arg Asn Lys Asp Val	
290	295 300
agg gct gct gtg agg aac ctg gtg ggc cag aaa cac cta act gag tga	1020

Arg Ala Ala Val Arg Asn Leu Val Gly Gln Lys His Leu Thr Glu
 305 310 315

ctgtcacagt gcagaacttc caacctcttc attgtgtttg tgagggaaga gtggtgcaat 1080

gaagaggagc cacttcccca aggtccaagt aatgaactca gaactaagac tataaacaaa 1140

ctatcaacgt tcottaagca ccaatgcttc tagttaacag gctggaagga caagccttta 1200

cacctttgga gagaatggct ggttgtcagc tttgtgttca acottagtgg cgtcgtagaa 1260

ctactctttc atgaccagag gctggcacag atctctggaa agatgctgac atgcataact 1320

aggagacaga tgcaaagcct gggt
 1344

<210> 26

<211> 319

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 26

Met Asp Arg Ser Asn Glu Thr Ala Pro Leu Ser Gly Phe Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Gly Leu Ser Ala His Pro Lys Leu Glu Lys Thr Phe Phe Val Leu Ile
 20 25 30

Leu Met Met Tyr Leu Val Ile Leu Leu Gly Asn Gly Val Leu Ile Leu
 35 40 45

Val Ser Ile Leu Asp Ser His Leu His Thr Pro Met Tyr Phe Phe Leu
50 55 60

Gly Asn Leu Ser Phe Leu Asp Ile Cys Tyr Thr Thr Ser Ser Val Pro
65 70 75 80

Leu Ile Leu Asp Ser Phe Leu Thr Pro Arg Lys Thr Ile Ser Phe Ser
85 90 95

Gly Cys Ala Val Gln Met Phe Leu Ser Phe Ala Met Gly Ala Thr Glu
100 105 110

Cys Val Leu Leu Ser Met Met Ala Phe Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys
115 120 125

Asn Pro Leu Arg Tyr Pro Val Val Met Asn Lys Ala Ala Tyr Val Pro
130 135 140

Met Ala Ala Ser Ser Trp Ala Gly Gly Ile Thr Asn Ser Val Val Gln
145 150 155 160

Thr Ser Leu Ala Met Arg Leu Pro Phe Cys Gly Asp Asn Val Ile Asn
165 170 175

His Phe Thr Cys Glu Ile Leu Ala Val Leu Lys Leu Ala Cys Ala Asp
180 185 190

Ile Ser Ile Asn Val Ile Ser Met Val Val Ala Asn Met Ile Phe Leu
195 200 205

Ala Val Pro Val Leu Phe Ile Phe Val Ser Tyr Val Phe Ile Leu Val
210 215 220

Thr Ile Leu Arg Ile Pro Ser Ala Glu Gly Arg Lys Lys Ala Phe Ser
225 230 235 240

Thr Cys Ser Ala His Leu Thr Val Val Leu Val Phe Tyr Gly Thr Ile
245 250 255

Leu Phe Met Tyr Gly Lys Pro Lys Ser Lys Asp Pro Leu Gly Ala Asp
260 265 270

Lys Gln Asp Leu Ala Asp Lys Leu Ile Ser Leu Phe Tyr Gly Val Val
275 280 285

Thr Pro Met Leu Asn Pro Ile Ile Tyr Ser Leu Arg Asn Lys Asp Val
290 295 300

Arg Ala Ala Val Arg Asn Leu Val Gly Gln Lys His Leu Thr Glu
305 310 315

<210> 27

<211> 942

<212> DNA

<213> Mus musculus

<300>

<308> AF102523

<309> 1999-02-08

<313> (1).. (942)

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (942)

<400> 27

atg gcg aac agc act act gtt act gag ttt att ttg ctg ggg ctg tca 48
 Met Ala Asn Ser Thr Thr Val Thr Glu Phe Ile Leu Leu Gly Leu Ser
 1 5 10 15

gat gcc tgt gag ctg cag gtg ctc ata ttc ctg ggc ttt ctc ctg acc 96
 Asp Ala Cys Glu Leu Gln Val Leu Ile Phe Leu Gly Phe Leu Leu Thr
 20 25 30

tac ttc ctc att ctg ctg gga aac ttc ctc atc atc ttc atc acc ctt 144
 Tyr Phe Leu Ile Leu Leu Gly Asn Phe Leu Ile Ile Phe Ile Thr Leu
 35 40 45

gtg gac agg cgc ctt tac acc ccc atg tat tac ttc ctc cgc aac ttt 192
 Val Asp Arg Arg Leu Tyr Thr Pro Met Tyr Tyr Phe Leu Arg Asn Phe
 50 55 60

gcc atg ctg gag atc tgg ttc acc tct gtc atc ttc ccc aag atg cta 240
 Ala Met Leu Glu Ile Trp Phe Thr Ser Val Ile Phe Pro Lys Met Leu
 65 70 75 80

acc aac atc atc aca gga cat aag acc atc tcc cta cta ggt tgt ttc 288
 Thr Asn Ile Ile Thr Gly His Lys Thr Ile Ser Leu Leu Gly Cys Phe
 85 90 95

ctc caa gca ttc ctc tat ttc ttc ctt ggc acc act gag ttc ttt cta	336
Leu Gln Ala Phe Leu Tyr Phe Phe Leu Gly Thr Thr Glu Phe Phe Leu	
100 105 110	
ctg gca gtg atg tcc ttt gac agg tat gtg gcc att tgt aac cct ttg	384
Leu Ala Val Met Ser Phe Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Asn Pro Leu	
115 120 125	
cgt tat gcc acc att atg agc aaa aga gtc tgt gtc cag ctt gtg ttt	432
Arg Tyr Ala Thr Ile Met Ser Lys Arg Val Cys Val Gln Leu Val Phe	
130 135 140	
tgc tca tgg atg tct gga ttg ctt ctc atc ata gtt cct agt tca att	480
Cys Ser Trp Met Ser Gly Leu Leu Leu Ile Ile Val Pro Ser Ser Ile	
145 150 155 160	
gta ttt cag cag cca ttc tgt ggc cca aac atc att aat cat ttc ttc	528
Val Phe Gln Gln Pro Phe Cys Gly Pro Asn Ile Ile Asn His Phe Phe	
165 170 175	
tgt gac aac ttt cca ctt atg gaa ctc ata tgt gca gat act agc ctg	576
Cys Asp Asn Phe Pro Leu Met Glu Leu Ile Cys Ala Asp Thr Ser Leu	
180 185 190	
gta gag ttc ctg ggt ttt gtt att gcc aat ttc agc ctc ctg ggc act	624
Val Glu Phe Leu Gly Phe Val Ile Ala Asn Phe Ser Leu Leu Gly Thr	
195 200 205	
ctg gct gtg act gcc acc tgc tat ggc cac att ctc tat acc att cta	672
Leu Ala Val Thr Ala Thr Cys Tyr Gly His Ile Leu Tyr Thr Ile Leu	
210 215 220	
cac att cct tca gcc aag gag agg aag aaa gcc ttc tca act tgc tcc	720
His Ile Pro Ser Ala Lys Glu Arg Lys Lys Ala Phe Ser Thr Cys Ser	
225 230 235 240	

tct cat att att gtg gtg tct ctc ttc tac ggc agc tgt atc ttc atg 768
 Ser His Ile Ile Val Val Ser Leu Phe Tyr Gly Ser Cys Ile Phe Met
 245 250 255

tat gtc cgg tct ggc aag aat gga cag ggg gag gat cat aac aag gtg 816
 Tyr Val Arg Ser Gly Lys Asn Gly Gln Gly Glu Asp His Asn Lys Val
 260 265 270

gtg gca ttg ctc aac act gta gtg aca ccc aca ctc aac ccc ttc atc 864
 Val Ala Leu Leu Asn Thr Val Val Thr Pro Thr Leu Asn Pro Phe Ile
 275 280 285

tac act ctg agg aac aag cag gtg aag cag gta ttt agg gaa cac gta 912
 Tyr Thr Leu Arg Asn Lys Gln Val Lys Gln Val Phe Arg Glu His Val
 290 295 300

agc aag ttc caa aag ttc agc cag acg tga 942
 Ser Lys Phe Gln Lys Phe Ser Gln Thr
 305 310

<210> 28

<211> 313

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 28

Met Ala Asn Ser Thr Thr Val Thr Glu Phe Ile Leu Leu Gly Leu Ser
 1 5 10 15

Asp Ala Cys Glu Leu Gln Val Leu Ile Phe Leu Gly Phe Leu Leu Thr
 20 25 30

Tyr Phe Leu Ile Leu Leu Gly Asn Phe Leu Ile Ile Phe Ile Thr Leu
35 40 45

Val Asp Arg Arg Leu Tyr Thr Pro Met Tyr Tyr Phe Leu Arg Asn Phe
50 55 60

Ala Met Leu Glu Ile Trp Phe Thr Ser Val Ile Phe Pro Lys Met Leu
65 70 75 80

Thr Asn Ile Ile Thr Gly His Lys Thr Ile Ser Leu Leu Gly Cys Phe
85 90 95

Leu Gln Ala Phe Leu Tyr Phe Phe Leu Gly Thr Thr Glu Phe Phe Leu
100 105 110

Leu Ala Val Met Ser Phe Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Asn Pro Leu
115 120 125

Arg Tyr Ala Thr Ile Met Ser Lys Arg Val Cys Val Gln Leu Val Phe
130 135 140

Cys Ser Trp Met Ser Gly Leu Leu Leu Ile Ile Val Pro Ser Ser Ile
145 150 155 160

Val Phe Gln Gln Pro Phe Cys Gly Pro Asn Ile Ile Asn His Phe Phe
165 170 175

Cys Asp Asn Phe Pro Leu Met Glu Leu Ile Cys Ala Asp Thr Ser Leu
180 185 190

Val Glu Phe Leu Gly Phe Val Ile Ala Asn Phe Ser Leu Leu Gly Thr
195 200 205

Leu Ala Val Thr Ala Thr Cys Tyr Gly His Ile Leu Tyr Thr Ile Leu
210 215 220

His Ile Pro Ser Ala Lys Glu Arg Lys Lys Ala Phe Ser Thr Cys Ser
225 230 235 240

Ser His Ile Ile Val Val Ser Leu Phe Tyr Gly Ser Cys Ile Phe Met
245 250 255

Tyr Val Arg Ser Gly Lys Asn Gly Gln Gly Glu Asp His Asn Lys Val
260 265 270

Val Ala Leu Leu Asn Thr Val Val Thr Pro Thr Leu Asn Pro Phe Ile
275 280 285

Tyr Thr Leu Arg Asn Lys Gln Val Lys Gln Val Phe Arg Glu His Val
290 295 300

Ser Lys Phe Gln Lys Phe Ser Gln Thr
305 310

<210> 29
 <211> 669
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<300>
 <308> AF102531
 <309> 1999-02-08
 <313> (1).. (669)

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (669)

<400> 29
 tgc aac tta gcg acc atg gat att atc tgc acc tcc tot gta ctg ccc 48
 Cys Asn Leu Ala Thr Met Asp Ile Ile Cys Thr Ser Ser Val Leu Pro
 1 5 10 15
 aag gcg ctg gtt ggt cta ctg tot gag gaa aac acc acc tcc ttc aaa 96
 Lys Ala Leu Val Gly Leu Leu Ser Glu Glu Asn Thr Thr Ser Phe Lys
 20 25 30
 ggg tgc atg act cag ctc ttc ttt ctt gtg tgg tot gga tcc tot gag 144
 Gly Cys Met Thr Gln Leu Phe Phe Leu Val Trp Ser Gly Ser Ser Glu
 35 40 45
 ctg ctg ctg ctc aca gtc atg gcc tat gac cgc tat gtg gcc atc tgt 192
 Leu Leu Leu Leu Thr Val Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys
 50 55 60
 ttg ccc ctg cat tac agc tct agg atg agt cca cag ctc tgt ggg acc 240
 Leu Pro Leu His Tyr Ser Ser Arg Met Ser Pro Gln Leu Cys Gly Thr
 65 70 75 80

ttt gcc gtg ggt gta tgg tcc atc tgc gca cta aat gca tct atc aac	288
Phe Ala Val Gly Val Trp Ser Ile Cys Ala Leu Asn Ala Ser Ile Asn	
85 90 95	
act ggt ctg atg aca cgg ctg tca ttc tgt ggc ccc aag gtc atc acc	336
Thr Gly Leu Met Thr Arg Leu Ser Phe Cys Gly Pro Lys Val Ile Thr	
100 105 110	
cac ttc ttc tgt gag att ccc cca ctc ctc ctg ctc tcc tgt agt cct	384
His Phe Phe Cys Glu Ile Pro Pro Leu Leu Leu Leu Ser Cys Ser Pro	
115 120 125	
aca tat ata aat agc gtt atg act ctt gtg gca gat gcc ttt tat gga	432
Thr Tyr Ile Asn Ser Val Met Thr Leu Val Ala Asp Ala Phe Tyr Gly	
130 135 140	
ggc atc aat ttt tta ctt acc ttg cta tcc tat ggc tgc atc att gcc	480
Gly Ile Asn Phe Leu Leu Thr Leu Leu Ser Tyr Gly Cys Ile Ile Ala	
145 150 155 160	
agc atc ctg cgc atg cgt tct gct gag ggc aag agg aag gcc ttt tot	528
Ser Ile Leu Arg Met Arg Ser Ala Glu Gly Lys Arg Lys Ala Phe Ser	
165 170 175	
acc tgc tca tcc cac ctc att gtg gtc tot gtg tac tac tca tot gtg	576
Thr Cys Ser Ser His Leu Ile Val Val Ser Val Tyr Tyr Ser Ser Val	
180 185 190	
ttc tgt gcc tat gtc agc cct gct tct agc tac agc cca gaa aga agc	624
Phe Cys Ala Tyr Val Ser Pro Ala Ser Ser Tyr Ser Pro Glu Arg Ser	
195 200 205	
aaa gtt tcc tca gtg ctg tac tca gtc ctc agc cca acc ctc aac	669
Lys Val Ser Ser Val Leu Tyr Ser Val Leu Ser Pro Thr Leu Asn	
210 215 220	

<210> 30
<211> 223
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 30

Cys Asn Leu Ala Thr Met Asp Ile Ile Cys Thr Ser Ser Val Leu Pro
1 5 10 15

Lys Ala Leu Val Gly Leu Leu Ser Glu Glu Asn Thr Thr Ser Phe Lys
20 25 30

Gly Cys Met Thr Gln Leu Phe Phe Leu Val Trp Ser Gly Ser Ser Glu
35 40 45

Leu Leu Leu Leu Thr Val Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys
50 55 60

Leu Pro Leu His Tyr Ser Ser Arg Met Ser Pro Gln Leu Cys Gly Thr
65 70 75 80

Phe Ala Val Gly Val Trp Ser Ile Cys Ala Leu Asn Ala Ser Ile Asn
85 90 95

Thr Gly Leu Met Thr Arg Leu Ser Phe Cys Gly Pro Lys Val Ile Thr
100 105 110

His Phe Phe Cys Glu Ile Pro Pro Leu Leu Leu Leu Ser Cys Ser Pro
115 120 125

Thr Tyr Ile Asn Ser Val Met Thr Leu Val Ala Asp Ala Phe Tyr Gly
130 135 140

Gly Ile Asn Phe Leu Leu Thr Leu Leu Ser Tyr Gly Cys Ile Ile Ala
145 150 155 160

Ser Ile Leu Arg Met Arg Ser Ala Glu Gly Lys Arg Lys Ala Phe Ser
165 170 175

Thr Cys Ser Ser His Leu Ile Val Val Ser Val Tyr Tyr Ser Ser Val
180 185 190

Phe Cys Ala Tyr Val Ser Pro Ala Ser Ser Tyr Ser Pro Glu Arg Ser
195 200 205

Lys Val Ser Ser Val Leu Tyr Ser Val Leu Ser Pro Thr Leu Asn
210 215 220

<210> 31

<211> 1661

<212> DNA

<213> Mus musculus

<300>

<308> AF121974

<309> 1999-04-25

<313> (1)..(1661)

<220>

<221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> n is a, c, g, or t

<220>

<221> CDS

<222> (303)..(1307)

<400> 31

gtntacatag tgagttcgag gccagccagg gctacacaga caaacctgt ctcgaaaaac 60

caaaaaaaaa aaaaaaaaaa agaattcatt aatgaaaaag aagggggaaa atggagggcc 120

atggaaagta gctacttcta acatacaact cttcatttcc tccatagaaa tgctgtagtt 180

aatgtctaca ccagttccag cctgggtgagg ctggggcagg tcctagcagg gcctttcagg 240

gactgaaccc cggcatcctg cccctccct ctcctggag cctccccaag ccctcaggcg 300

tc atg tca ggg tgg agc aat ggc acc tac aat gag tcc tac acc agc 347

Met Ser Gly Trp Ser Asn Gly Thr Tyr Asn Glu Ser Tyr Thr Ser

1 5 10 15

ttc ctc ctc atg ggc ttc cca ggg atg cag gaa gcc aga gcc ctc ctg 395

Phe Leu Leu Met Gly Phe Pro Gly Met Gln Glu Ala Arg Ala Leu Leu

20 25 30

gtg ctg ccc ttc ctc agc ctc tac ctg gtg atc ctc ttc acc aat gcc 443

Val Leu Pro Phe Leu Ser Leu Tyr Leu Val Ile Leu Phe Thr Asn Ala

35 40 45

ctg gtc atc cac acg gtg gca tcc cag cgc agc ctg cac cag ccc atg 491

Leu Val Ile His Thr Val Ala Ser Gln Arg Ser Leu His Gln Pro Met
 50 55 60

tac ctg ctc att gcc ctg ctc ctg gct gtc aat atc tgc gct gcc acc 539
 Tyr Leu Leu Ile Ala Leu Leu Leu Ala Val Asn Ile Cys Ala Ala Thr
 65 70 75

acc gtg gtg ccc ccc atg ctc ttc agc ttc tcc aca cgc ttc aac cgc 587
 Thr Val Val Pro Pro Met Leu Phe Ser Phe Ser Thr Arg Phe Asn Arg
 80 85 90 95

atc tcc ctc cct cga tgc ttg gga caa atg ttc tgc atc tac ttc ctt 635
 Ile Ser Leu Pro Arg Cys Leu Gly Gln Met Phe Cys Ile Tyr Phe Leu
 100 105 110

att gtc ttt gac tgc aac atc ctc ctg gtc atg gct cta gat cgc tat 683
 Ile Val Phe Asp Cys Asn Ile Leu Leu Val Met Ala Leu Asp Arg Tyr
 115 120 125

gtg gct atc tgc tac cct ctc cgc tac cca gaa ata gtg aca gga cag 731
 Val Ala Ile Cys Tyr Pro Leu Arg Tyr Pro Glu Ile Val Thr Gly Gln
 130 135 140

tta ctg gct ggt ctg gtg gtg ctg gca gtc acc agg agc aca agc att 779
 Leu Leu Ala Gly Leu Val Val Leu Ala Val Thr Arg Ser Thr Ser Ile
 145 150 155

gtt gct cca gtg gtg gtg ctg gcc tcg cgg gtt cgc ttc tgt cgc tca 827
 Val Ala Pro Val Val Val Leu Ala Ser Arg Val Arg Phe Cys Arg Ser
 160 165 170 175

gat gtg atc cgc cac ttt gcc tgt gag cac atg gcc ctg atg aag ctt 875
 Asp Val Ile Arg His Phe Ala Cys Glu His Met Ala Leu Met Lys Leu
 180 185 190

tcc tgt ggg gac atc tcg ctg aat aag acg gtg gga ctc act gtt cgc 923

Ser Cys Gly Asp Ile Ser Leu Asn Lys Thr Val Gly Leu Thr Val Arg
 195 200 205

atc ttc aac oga gtc ctg gat atg ctc ctg tta ggt gcc tcc tac tcc 971
 Ile Phe Asn Arg Val Leu Asp Met Leu Leu Leu Gly Ala Ser Tyr Ser
 210 215 220

cgc atc atc cat gct gcc ttc agg atc tca tca ggt gga gca cgg tcc 1019
 Arg Ile Ile His Ala Ala Phe Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ala Arg Ser
 225 230 235

aaa gcc ctg aac acc tgt ggc tcc cac ctg ctg gtc atc ttc acc gtc 1067
 Lys Ala Leu Asn Thr Cys Gly Ser His Leu Leu Val Ile Phe Thr Val
 240 245 250 255

tac tcc tcc acc atg tcc tca tcc att gtc tac cgt gtg gca cgc act 1115
 Tyr Ser Ser Thr Met Ser Ser Ser Ile Val Tyr Arg Val Ala Arg Thr
 260 265 270

gcc tcc caa gat gtg cac aac ttg ctt agt gct ttc tat ctg ttg ctc 1163
 Ala Ser Gln Asp Val His Asn Leu Leu Ser Ala Phe Tyr Leu Leu Leu
 275 280 285

ccc tgt ctg gtc aac ccc atc atc tac ggg gcc aga acc aag gaa atc 1211
 Pro Cys Leu Val Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Ala Arg Thr Lys Glu Ile
 290 295 300

agg cag cac ctg gta gct ctg ttc caa agg act cag caa cag gtc ttc 1259
 Arg Gln His Leu Val Ala Leu Phe Gln Arg Thr Gln Gln Gln Val Phe
 305 310 315

act gag aag ccc cag tcc ctg ccc tcg aat aga gag ctt cct gga tga 1307
 Thr Glu Lys Pro Gln Ser Leu Pro Ser Asn Arg Glu Leu Pro Gly
 320 325 330

ttgtccagaa ttgtgggtc tcaaaatcac ttctactatt cagtgaagga ggggcattca 1367

agtgggcatt cgtctctggt atattttgtc tcggctattt tagttcagca tcctatttat 1427
 gagaagggtc tattctatat ctccagctgt ctagaactcc ttaagtggcc caggatgacc 1487
 tggaacccaa acaattctcc tttcttagtt tgccaaatgc tagcattaga ggcattgagtc 1547
 acagtgcctg gcttatctgc actcatactg gagagcctca tgtctgcttt ccaaaaagca 1607
 cctactcact ctgaactagc aactgaaagc aagctctaac cctggcttga agtt 1661

<210> 32
 <211> 334
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 32

Met Ser Gly Trp Ser Asn Gly Thr Tyr Asn Glu Ser Tyr Thr Ser Phe
 1 5 10 15

Leu Leu Met Gly Phe Pro Gly Met Gln Glu Ala Arg Ala Leu Leu Val
 20 25 30

Leu Pro Phe Leu Ser Leu Tyr Leu Val Ile Leu Phe Thr Asn Ala Leu
 35 40 45

Val Ile His Thr Val Ala Ser Gln Arg Ser Leu His Gln Pro Met Tyr
 50 55 60

Leu Leu Ile Ala Leu Leu Leu Ala Val Asn Ile Cys Ala Ala Thr Thr

65		70		75		80									
Val	Val	Pro	Pro	Met	Leu	Phe	Ser	Phe	Ser	Thr	Arg	Phe	Asn	Arg	Ile
				85					90					95	
Ser	Leu	Pro	Arg	Cys	Leu	Gly	Gln	Met	Phe	Cys	Ile	Tyr	Phe	Leu	Ile
				100				105						110	
Val	Phe	Asp	Cys	Asn	Ile	Leu	Leu	Val	Met	Ala	Leu	Asp	Arg	Tyr	Val
				115				120						125	
Ala	Ile	Cys	Tyr	Pro	Leu	Arg	Tyr	Pro	Glu	Ile	Val	Thr	Gly	Gln	Leu
				130				135						140	
Leu	Ala	Gly	Leu	Val	Val	Leu	Ala	Val	Thr	Arg	Ser	Thr	Ser	Ile	Val
				145				150					155		160
Ala	Pro	Val	Val	Val	Leu	Ala	Ser	Arg	Val	Arg	Phe	Cys	Arg	Ser	Asp
				165				170						175	
Val	Ile	Arg	His	Phe	Ala	Cys	Glu	His	Met	Ala	Leu	Met	Lys	Leu	Ser
				180				185						190	
Cys	Gly	Asp	Ile	Ser	Leu	Asn	Lys	Thr	Val	Gly	Leu	Thr	Val	Arg	Ile
				195				200						205	
Phe	Asn	Arg	Val	Leu	Asp	Met	Leu	Leu	Leu	Gly	Ala	Ser	Tyr	Ser	Arg

210 215 220

Ile Ile His Ala Ala Phe Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ala Arg Ser Lys
225 230 235 240

Ala Leu Asn Thr Cys Gly Ser His Leu Leu Val Ile Phe Thr Val Tyr
245 250 255

Ser Ser Thr Met Ser Ser Ser Ile Val Tyr Arg Val Ala Arg Thr Ala
260 265 270

Ser Gln Asp Val His Asn Leu Leu Ser Ala Phe Tyr Leu Leu Leu Pro
275 280 285

Cys Leu Val Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Ala Arg Thr Lys Glu Ile Arg
290 295 300

Gln His Leu Val Ala Leu Phe Gln Arg Thr Gln Gln Gln Val Phe Thr
305 310 315 320

Glu Lys Pro Gln Ser Leu Pro Ser Asn Arg Glu Leu Pro Gly
325 330

<210> 33

<211> 1116

<212> DNA

<213> Mus musculus

<300>

<308> AF121975

<309> 1999-04-25

<313> (1).. (1116)

<220>

<221> misc_feature

<222> (15).. (15)

<223> n is a, c, g, or t

<220>

<221> CDS

<222> (50).. (1015)

<400> 33

caagctggot cttontactg tototocatt agtttttagtc gtcacggga atg aat tca 58
 Met Asn Ser
 1

aaa gca agc atg ctt gga act aac ttc act atc atc cat cca act gtg 106
 Lys Ala Ser Met Leu Gly Thr Asn Phe Thr Ile Ile His Pro Thr Val
 5 10 15

ttc atc ctg ctt gga atc cca ggg ctg gag cag tac cac acc tgg ctt 154
 Phe Ile Leu Leu Gly Ile Pro Gly Leu Glu Gln Tyr His Thr Trp Leu
 20 25 30 35

tct att cct ttt tgt ctt atg tac att gct gca gtc ttg ggg aac gga 202
 Ser Ile Pro Phe Cys Leu Met Tyr Ile Ala Ala Val Leu Gly Asn Gly
 40 45 50

gcc ctc atc ctt gtt gtc ctg agt gaa cgc acc ctc cat gag ccc atg 250
 Ala Leu Ile Leu Val Val Leu Ser Glu Arg Thr Leu His Glu Pro Met
 55 60 65

tat gtc ttt ctg tcc atg ctg gct ggc act gat att ctc ctg tca acc	298
Tyr Val Phe Leu Ser Met Leu Ala Gly Thr Asp Ile Leu Leu Ser Thr	
70 75 80	
acc act gtg cct aag acc ttg gct atc ttt tgg ttc cat gct ggg gag	346
Thr Thr Val Pro Lys Thr Leu Ala Ile Phe Trp Phe His Ala Gly Glu	
85 90 95	
atc ccc ttt gat gcc tgc att gct cag atg ttt ttc atc cac gtt got	394
Ile Pro Phe Asp Ala Cys Ile Ala Gln Met Phe Phe Ile His Val Ala	
100 105 110 115	
ttt gtg gct gag tog gga atc ctt ctg gcc atg gca ttt gac cga tat	442
Phe Val Ala Glu Ser Gly Ile Leu Leu Ala Met Ala Phe Asp Arg Tyr	
120 125 130	
gtg got att tgt act cct ctg aga tac tca gcc gtc tta aca cct atg	490
Val Ala Ile Cys Thr Pro Leu Arg Tyr Ser Ala Val Leu Thr Pro Met	
135 140 145	
gca att gga aaa atg acc ctg gcc atc tgg gga cgg agc att ggg aca	538
Ala Ile Gly Lys Met Thr Leu Ala Ile Trp Gly Arg Ser Ile Gly Thr	
150 155 160	
att ttc cct atc ata ttt ctg ctg aag agg ctg tca tac tgc agg acc	586
Ile Phe Pro Ile Ile Phe Leu Leu Lys Arg Leu Ser Tyr Cys Arg Thr	
165 170 175	
aat gtc atc cca cac tca tat tgt gag cat att ggt gta gcc aga ttg	634
Asn Val Ile Pro His Ser Tyr Cys Glu His Ile Gly Val Ala Arg Leu	
180 185 190 195	
gct tgt gct gac atc act gtc aat atc tgg tat ggc ttc tog gtg cca	682
Ala Cys Ala Asp Ile Thr Val Asn Ile Trp Tyr Gly Phe Ser Val Pro	
200 205 210	

atg gct tca gtt ttg gta gat gtt goa ctc att ggt att tot tat acg 730
 Met Ala Ser Val Leu Val Asp Val Ala Leu Ile Gly Ile Ser Tyr Thr
 215 220 225

ttg atc ctc cag gct gtg ttt aga ctt cct tcc cag gat gct agg cac 778
 Leu Ile Leu Gln Ala Val Phe Arg Leu Pro Ser Gln Asp Ala Arg His
 230 235 240

aag gcc ctc aat acc tgt ggt tct cac att ggg gtc att ctc ctc ttt 826
 Lys Ala Leu Asn Thr Cys Gly Ser His Ile Gly Val Ile Leu Leu Phe
 245 250 255

ttc ata cca tca ttt ttt act ttc ctt act cat cgc ttt ggc aag aac 874
 Phe Ile Pro Ser Phe Phe Thr Phe Leu Thr His Arg Phe Gly Lys Asn
 260 265 270 275

atc ccc cac cat gtg cac att ctt ctg gca aat ctc tat gtg ttg gtt 922
 Ile Pro His His Val His Ile Leu Leu Ala Asn Leu Tyr Val Leu Val
 280 285 290

ccc ccc atg ctt aac cct atc atc tat ggt gct aag acc aag caa att 970
 Pro Pro Met Leu Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Ala Lys Thr Lys Gln Ile
 295 300 305

agg gac agc atg act cgc atg ttg tct gtt gtg tgg aag tct tga 1015
 Arg Asp Ser Met Thr Arg Met Leu Ser Val Val Trp Lys Ser
 310 315 320

gagcagtcac agttcacaaa gctgtcttag tttctcttac aaacaggaga gagagagaga 1075

gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagagagaga g 1116

<210> 34
 <211> 321
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 34

Met Asn Ser Lys Ala Ser Met Leu Gly Thr Asn Phe Thr Ile Ile His
1 5 10 15

Pro Thr Val Phe Ile Leu Leu Gly Ile Pro Gly Leu Glu Gln Tyr His
20 25 30

Thr Trp Leu Ser Ile Pro Phe Cys Leu Met Tyr Ile Ala Ala Val Leu
35 40 45

Gly Asn Gly Ala Leu Ile Leu Val Val Leu Ser Glu Arg Thr Leu His
50 55 60

Glu Pro Met Tyr Val Phe Leu Ser Met Leu Ala Gly Thr Asp Ile Leu
65 70 75 80

Leu Ser Thr Thr Thr Val Pro Lys Thr Leu Ala Ile Phe Trp Phe His
85 90 95

Ala Gly Glu Ile Pro Phe Asp Ala Cys Ile Ala Gln Met Phe Phe Ile
100 105 110

His Val Ala Phe Val Ala Glu Ser Gly Ile Leu Leu Ala Met Ala Phe
115 120 125

Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Thr Pro Leu Arg Tyr Ser Ala Val Leu
130 135 140

Thr Pro Met Ala Ile Gly Lys Met Thr Leu Ala Ile Trp Gly Arg Ser
145 150 155 160

Ile Gly Thr Ile Phe Pro Ile Ile Phe Leu Leu Lys Arg Leu Ser Tyr
165 170 175

Cys Arg Thr Asn Val Ile Pro His Ser Tyr Cys Glu His Ile Gly Val
180 185 190

Ala Arg Leu Ala Cys Ala Asp Ile Thr Val Asn Ile Trp Tyr Gly Phe
195 200 205

Ser Val Pro Met Ala Ser Val Leu Val Asp Val Ala Leu Ile Gly Ile
210 215 220

Ser Tyr Thr Leu Ile Leu Gln Ala Val Phe Arg Leu Pro Ser Gln Asp
225 230 235 240

Ala Arg His Lys Ala Leu Asn Thr Cys Gly Ser His Ile Gly Val Ile
245 250 255

Leu Leu Phe Phe Ile Pro Ser Phe Phe Thr Phe Leu Thr His Arg Phe
260 265 270

Gly Lys Asn Ile Pro His His Val His Ile Leu Leu Ala Asn Leu Tyr
275 280 285

Val Leu Val Pro Pro Met Leu Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Ala Lys Thr
290 295 300

Lys Gln Ile Arg Asp Ser Met Thr Arg Met Leu Ser Val Val Trp Lys
305 310 315 320

Ser

<210> 35
<211> 1267
<212> DNA
<213> Mus musculus

<300>
<308> AF121977
<309> 1999-04-25
<313> (1).. (1267)

<220>
<221> misc_feature
<222> (108).. (108)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> CDS
<222> (172).. (1200)

<400> 35

tctattgctc actgaaatat aaactagcaa catgaagaac atatgattga actatatcaa 60

agaaacaaat ttttctaato ataaatgacc atgaatcatt gaatttcnta agctgaagtt 120

ctttcatgag gtaccacaca acagcatggt cctgtacaca tgtaactacc t atg ttt 177

Met Phe

1

tgt cat tta tat aat gag aac aat atg caa gtg gca atc ctg gat tcc 225

Cys His Leu Tyr Asn Glu Asn Asn Met Gln Val Ala Ile Leu Asp Ser

5

10

15

att cta ata cct tct tat ttt tct ttc ctg aca gag atg gag cct gga 273

Ile Leu Ile Pro Ser Tyr Phe Ser Phe Leu Thr Glu Met Glu Pro Gly

20

25

30

aac tac aca gtt gta aca gaa ttc att ctt tta ggg tta aca gat gat 321

Asn Tyr Thr Val Val Thr Glu Phe Ile Leu Leu Gly Leu Thr Asp Asp

35

40

45

50

att aca gtc agt gtc att tta ttt gtt atg ttt cta atc gtc tat tct 369

Ile Thr Val Ser Val Ile Leu Phe Val Met Phe Leu Ile Val Tyr Ser

55

60

65

gtt act tta atg ggt aac ttg aac ata att gtg cta atc aga acc agc 417

Val Thr Leu Met Gly Asn Leu Asn Ile Ile Val Leu Ile Arg Thr Ser

70

75

80

cct cag ctt cac acc ccc atg tac ctt ttc ctt agc cat ttg gcc ttt 465

Pro Gln Leu His Thr Pro Met Tyr Leu Phe Leu Ser His Leu Ala Phe

85

90

95

cta gac att ggg tac tcc agc tca gtt aca ccc atc atg ctg agg ggc 513

Leu Asp Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Val Thr Pro Ile Met Leu Arg Gly

100

105

110

ttt ctc aga aag gga aca ttt atc cct gtg gct ggc tgt gtg gct caa	561
Phe Leu Arg Lys Gly Thr Phe Ile Pro Val Ala Gly Cys Val Ala Gln	
115 120 125 130	
ctc tgt att gtg gtg gca ttt ggg aca tct gaa tct ttc ttg cta gct	609
Leu Cys Ile Val Val Ala Phe Gly Thr Ser Glu Ser Phe Leu Leu Ala	
135 140 145	
tcc atg gcc tat gac cgc tat gtg gcc atc tgc tca cct ttg ctc tac	657
Ser Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Ser Pro Leu Leu Tyr	
150 155 160	
tca aca cag atg tcc tcc aca gtc tgc atc ctc cta gtt gga act tcc	705
Ser Thr Gln Met Ser Ser Thr Val Cys Ile Leu Leu Val Gly Thr Ser	
165 170 175	
tac cta ggt gga tgg gtg aat gct tgg ata ttt act ggt tgc tcc tta	753
Tyr Leu Gly Gly Trp Val Asn Ala Trp Ile Phe Thr Gly Cys Ser Leu	
180 185 190	
aat ctg tca ttt tgt ggg cca aat aaa att aat cac ttt ttc tgt gac	801
Asn Leu Ser Phe Cys Gly Pro Asn Lys Ile Asn His Phe Phe Cys Asp	
195 200 205 210	
tat tca cca cta ttg aag ctt tct tgt tct cat gac ttt tct ttt gaa	849
Tyr Ser Pro Leu Leu Lys Leu Ser Cys Ser His Asp Phe Ser Phe Glu	
215 220 225	
gtc att cca gca atc tct tgc gga tcc atc att gtg gtc act gtg ttt	897
Val Ile Pro Ala Ile Ser Ser Gly Ser Ile Ile Val Val Thr Val Phe	
230 235 240	
atc att gct ctg tct tat gtc tac atc ctt gtg tca atc ctg aag atg	945
Ile Ile Ala Leu Ser Tyr Val Tyr Ile Leu Val Ser Ile Leu Lys Met	
245 250 255	

cgc tct act gaa ggt cgc cag aag gcc ttc tcc acc tgc act tcc cac 993
 Arg Ser Thr Glu Gly Arg Gln Lys Ala Phe Ser Thr Cys Thr Ser His
 260 265 270

ctc act gca gtc act ctg ttc ttt ggg acc atc aca ttc att tat gtg 1041
 Leu Thr Ala Val Thr Leu Phe Phe Gly Thr Ile Thr Phe Ile Tyr Val
 275 280 285 290

atg ccc cag tcc agc tac tcc aca gac cag aac aaa gtg gtg tct gtg 1089
 Met Pro Gln Ser Ser Tyr Ser Thr Asp Gln Asn Lys Val Val Ser Val
 295 300 305

ttt tac aca gtg gtg atc ccc atg ttg aat ccc ctc atc tac agt ttc 1137
 Phe Tyr Thr Val Val Ile Pro Met Leu Asn Pro Leu Ile Tyr Ser Phe
 310 315 320

aga aac aaa gag gtt aaa gaa gcc atg aaa aaa ctg att got aaa aca 1185
 Arg Asn Lys Glu Val Lys Glu Ala Met Lys Lys Leu Ile Ala Lys Thr
 325 330 335

cat tgg tgg tcc tga aatatttgaa ttacaaaca gtaaattctg ctottacagg 1240
 His Trp Trp Ser
 340

taaatggcag tataactaagt aaattac
 1267

<210> 36
 <211> 342
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 36

Met Phe Cys His Leu Tyr Asn Glu Asn Asn Met Gln Val Ala Ile Leu
1 5 10 15

Asp Ser Ile Leu Ile Pro Ser Tyr Phe Ser Phe Leu Thr Glu Met Glu
20 25 30

Pro Gly Asn Tyr Thr Val Val Thr Glu Phe Ile Leu Leu Gly Leu Thr
35 40 45

Asp Asp Ile Thr Val Ser Val Ile Leu Phe Val Met Phe Leu Ile Val
50 55 60

Tyr Ser Val Thr Leu Met Gly Asn Leu Asn Ile Ile Val Leu Ile Arg
65 70 75 80

Thr Ser Pro Gln Leu His Thr Pro Met Tyr Leu Phe Leu Ser His Leu
85 90 95

Ala Phe Leu Asp Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Val Thr Pro Ile Met Leu
100 105 110

Arg Gly Phe Leu Arg Lys Gly Thr Phe Ile Pro Val Ala Gly Cys Val
115 120 125

Ala Gln Leu Cys Ile Val Val Ala Phe Gly Thr Ser Glu Ser Phe Leu
130 135 140

Leu Ala Ser Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Ser Pro Leu
145 150 155 160

Leu Tyr Ser Thr Gln Met Ser Ser Thr Val Cys Ile Leu Leu Val Gly
165 170 175

Thr Ser Tyr Leu Gly Gly Trp Val Asn Ala Trp Ile Phe Thr Gly Cys
180 185 190

Ser Leu Asn Leu Ser Phe Cys Gly Pro Asn Lys Ile Asn His Phe Phe
195 200 205

Cys Asp Tyr Ser Pro Leu Leu Lys Leu Ser Cys Ser His Asp Phe Ser
210 215 220

Phe Glu Val Ile Pro Ala Ile Ser Ser Gly Ser Ile Ile Val Val Thr
225 230 235 240

Val Phe Ile Ile Ala Leu Ser Tyr Val Tyr Ile Leu Val Ser Ile Leu
245 250 255

Lys Met Arg Ser Thr Glu Gly Arg Gln Lys Ala Phe Ser Thr Cys Thr
260 265 270

Ser His Leu Thr Ala Val Thr Leu Phe Phe Gly Thr Ile Thr Phe Ile
275 280 285

Tyr Val Met Pro Gln Ser Ser Tyr Ser Thr Asp Gln Asn Lys Val Val
290 295 300

Ser Val Phe Tyr Thr Val Val Ile Pro Met Leu Asn Pro Leu Ile Tyr
305 310 315 320

Ser Phe Arg Asn Lys Glu Val Lys Glu Ala Met Lys Lys Leu Ile Ala
325 330 335

Lys Thr His Trp Trp Ser
340

<210> 37
<211> 1120
<212> DNA
<213> Mus musculus

<300>
<308> AF121979
<309> 1999-04-25
<313> (1).. (1120)

<220>
<221> CDS
<222> (84).. (1040)

<220>
<221> misc_feature
<222> (940).. (940)
<223> n i s a, c, g, o r t

<220>

<221> misc_feature

<222> (1083)..(1083)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 37

tgtcattatt agtgcgtgata aagtgtttgtc aagtcctgtg agattccttc aaatgaatat 60

gtccatcaga ggctcctgac aac atg tca cca ggc aac agc tca tgg att cat 113

Met Ser Pro Gly Asn Ser Ser Trp Ile His

1 5 10

cct tot tcc ttc ctg ctc ttg gga atc cca gga ctg gaa gag ttg cag 161

Pro Ser Ser Phe Leu Leu Leu Gly Ile Pro Gly Leu Glu Glu Leu Gln

15 20 25

ttc tgg ctt ggt ttg cca ttt gga aca gtc tat ctt att gct gtc cta 209

Phe Trp Leu Gly Leu Pro Phe Gly Thr Val Tyr Leu Ile Ala Val Leu

30 35 40

ggg aat gtc atc att ctc ttt gta atc tat cta gag cac agc ctt cac 257

Gly Asn Val Ile Ile Leu Phe Val Ile Tyr Leu Glu His Ser Leu His

45 50 55

caa cct atg ttc tac tta ctg gcc ata ctg gct gtt act gac ttg ggt 305

Gln Pro Met Phe Tyr Leu Leu Ala Ile Leu Ala Val Thr Asp Leu Gly

60 65 70

ctg tct aca gca act gtt ccc aga gca ctc ggt ata ttc tgg ttt ggc 353

Leu Ser Thr Ala Thr Val Pro Arg Ala Leu Gly Ile Phe Trp Phe Gly

75 80 85 90

ttc cat aag att gcc ttt agg gac tgt gta gct caa atg ttt ttc ata 401

Phe His Lys Ile Ala Phe Arg Asp Cys Val Ala Gln Met Phe Phe Ile

95 100 105

cat ctg ttt aca ggc atc gaa aca ttc atg ctt gta gct atg gcc ttt	449
His Leu Phe Thr Gly Ile Glu Thr Phe Met Leu Val Ala Met Ala Phe	
110 115 120	
gat cgc tac att gcc atc tgt aac cct ctc cga tat aac act atc ctc	497
Asp Arg Tyr Ile Ala Ile Cys Asn Pro Leu Arg Tyr Asn Thr Ile Leu	
125 130 135	
acc aac aga aca atc tgc att att gtt gga gtt gga cta ttt aaa aat	545
Thr Asn Arg Thr Ile Cys Ile Ile Val Gly Val Gly Leu Phe Lys Asn	
140 145 150	
ttc att ttg gtt ttt cca ctt ata ttt ctc att cta agg ctt tca ttc	593
Phe Ile Leu Val Phe Pro Leu Ile Phe Leu Ile Leu Arg Leu Ser Phe	
155 160 165 170	
tgt gga cac aat atc ata cca cac aca tac tgt gag cac atg gcc att	641
Cys Gly His Asn Ile Ile Pro His Thr Tyr Cys Glu His Met Gly Ile	
175 180 185	
gct cga ctg gca tgc gtc agc atc aag gtt aat gta tta ttt gga tta	689
Ala Arg Leu Ala Cys Val Ser Ile Lys Val Asn Val Leu Phe Gly Leu	
190 195 200	
ata ctc ata tct atg ata ctt ctg gat gtt gtt ttg agt gct ctg tcc	737
Ile Leu Ile Ser Met Ile Leu Leu Asp Val Val Leu Ser Ala Leu Ser	
205 210 215	
tat gcg aaa att ctt cat gct gta ttt aaa ctc cca tcc tgg gaa gcc	785
Tyr Ala Lys Ile Leu His Ala Val Phe Lys Leu Pro Ser Trp Glu Ala	
220 225 230	
aga ctc aaa gct ctt aat acc tgt ggt tcc cat gtg tgt gtg atc ttg	833
Arg Leu Lys Ala Leu Asn Thr Cys Gly Ser His Val Cys Val Ile Leu	
235 240 245 250	

got ttc ttc act cca gcc ttt ttc tcc ttc ttg act cat cga ttt gga 881
 Ala Phe Phe Thr Pro Ala Phe Phe Ser Phe Leu Thr His Arg Phe Gly
 255 260 265

cac aat att cca cga tat atc cac atc ctc ott gct aac tta tat gtg 929
 His Asn Ile Pro Arg Tyr Ile His Ile Leu Leu Ala Asn Leu Tyr Val
 270 275 280

atc att ccc cng gct ott aac cct att att tat ggg gtg aga acc aaa 977
 Ile Ile Pro Xaa Ala Leu Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Val Arg Thr Lys
 285 290 295

cag ata caa gat cgt gcg gtg aca ata ttg tgc aac gag gtt gga cag 1025
 Gln Ile Gln Asp Arg Ala Val Thr Ile Leu Cys Asn Glu Val Gly Gln
 300 305 310

ctg gca gac gac tag tatgtcttct aatagtctct ttccttccta agaggactac 1080
 Leu Ala Asp Asp
 315

tgntttgtaa gcttgcatac gtggaacaca ttacacaatg 1120

<210> 38

<211> 318

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<221> misc_feature

<222> (286).. (286)

<223> The 'Xaa' at location 286 stands for Gln, Arg, Pro, or Leu.

<400> 38

Met Ser Pro Gly Asn Ser Ser Trp Ile His Pro Ser Ser Phe Leu Leu

1 5 10 15

Leu Gly Ile Pro Gly Leu Glu Glu Leu Gln Phe Trp Leu Gly Leu Pro
20 25 30

Phe Gly Thr Val Tyr Leu Ile Ala Val Leu Gly Asn Val Ile Ile Leu
35 40 45

Phe Val Ile Tyr Leu Glu His Ser Leu His Gln Pro Met Phe Tyr Leu
50 55 60

Leu Ala Ile Leu Ala Val Thr Asp Leu Gly Leu Ser Thr Ala Thr Val
65 70 75 80

Pro Arg Ala Leu Gly Ile Phe Trp Phe Gly Phe His Lys Ile Ala Phe
85 90 95

Arg Asp Cys Val Ala Gln Met Phe Phe Ile His Leu Phe Thr Gly Ile
100 105 110

Glu Thr Phe Met Leu Val Ala Met Ala Phe Asp Arg Tyr Ile Ala Ile
115 120 125

Cys Asn Pro Leu Arg Tyr Asn Thr Ile Leu Thr Asn Arg Thr Ile Cys
130 135 140

Ile Ile Val Gly Val Gly Leu Phe Lys Asn Phe Ile Leu Val Phe Pro

145 150 155 160

Leu Ile Phe Leu Ile Leu Arg Leu Ser Phe Cys Gly His Asn Ile Ile
 165 170 175

Pro His Thr Tyr Cys Glu His Met Gly Ile Ala Arg Leu Ala Cys Val
 180 185 190

Ser Ile Lys Val Asn Val Leu Phe Gly Leu Ile Leu Ile Ser Met Ile
 195 200 205

Leu Leu Asp Val Val Leu Ser Ala Leu Ser Tyr Ala Lys Ile Leu His
 210 215 220

Ala Val Phe Lys Leu Pro Ser Trp Glu Ala Arg Leu Lys Ala Leu Asn
225 230 235 240

Thr Cys Gly Ser His Val Cys Val Ile Leu Ala Phe Phe Thr Pro Ala
 245 250 255

Phe Phe Ser Phe Leu Thr His Arg Phe Gly His Asn Ile Pro Arg Tyr
 260 265 270

Ile His Ile Leu Leu Ala Asn Leu Tyr Val Ile Ile Pro Xaa Ala Leu
 275 280 285

Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Val Arg Thr Lys Gln Ile Gln Asp Arg Ala

290

295

300

Val Thr Ile Leu Cys Asn Glu Val Gly Gln Leu Ala Asp Asp
 305 310 315

<210> 39

<211> 2333

<212> DNA

<213> Mus musculus

<300>

<308> M36778

<309> 1995-08-22

<313> (1).. (2333)

<220>

<221> CDS

<222> (24).. (1088)

<400> 39

gctgtggcag ggaaggggcc acc atg gga tgt acg ctg agc gca gag gag aga 53
 Met. Gly Cys Thr Leu Ser Ala Glu Glu Arg
 1 5 10

gcc gcc ctc gag cgg agc aag gcg att gag aaa aac ctc aaa gaa gat 101
 Ala Ala Leu Glu Arg Ser Lys Ala Ile Glu Lys Asn Leu Lys Glu Asp
 15 20 25

ggc atc agc gcc gcc aaa gac gtg aaa tta ctc ctg ctg ggg gct gga 149
 Gly Ile Ser Ala Ala Lys Asp Val Lys Leu Leu Leu Leu Gly Ala Gly
 30 35 40

gaa tca gga aaa agc acc att gtg aag cag atg aag atc atc cat gaa 197
 Glu Ser Gly Lys Ser Thr Ile Val Lys Gln Met Lys Ile Ile His Glu

45	50	55	
gat ggc ttc tct ggg gaa gac gtg aag cag tac aag cct gtg gtc tac			245
Asp Gly Phe Ser Gly Glu Asp Val Lys Gln Tyr Lys Pro Val Val Tyr			
60	65	70	
agc aac acc atc cag tct ctg gcg gcc att gtc cgg gcc atg gac act			293
Ser Asn Thr Ile Gln Ser Leu Ala Ala Ile Val Arg Ala Met Asp Thr			
75	80	85	90
ttg ggc gtg gag tat ggt gac aag gag agg aag acg gac tcc aag atg			341
Leu Gly Val Glu Tyr Gly Asp Lys Glu Arg Lys Thr Asp Ser Lys Met			
95	100	105	
gtg tgt gac gtg gtg agt cgt atg gaa gac act gaa ccg ttc tct gca			389
Val Cys Asp Val Val Ser Arg Met Glu Asp Thr Glu Pro Phe Ser Ala			
110	115	120	
gaa ctt ctt tct gcc atg atg cga ctc tgg ggc gac tcg ggg atc cag			437
Glu Leu Leu Ser Ala Met Met Arg Leu Trp Gly Asp Ser Gly Ile Gln			
125	130	135	
gag tgc ttc aac cga tct cgg gag tat cag ctc aat gac tct gcc aaa			485
Glu Cys Phe Asn Arg Ser Arg Glu Tyr Gln Leu Asn Asp Ser Ala Lys			
140	145	150	
tac tac ctg gac agc ctg gat cgg att gga gcc ggt gac tac cag ccc			533
Tyr Tyr Leu Asp Ser Leu Asp Arg Ile Gly Ala Gly Asp Tyr Gln Pro			
155	160	165	170
act gag cag gac atc ctc cga acc aga gtc aaa aca act ggc atc gta			581
Thr Glu Gln Asp Ile Leu Arg Thr Arg Val Lys Thr Thr Gly Ile Val			
175	180	185	
gaa acc cac ttc acc ttc aag aac ctc cac ttc agg ctg ttt gac gtc			629
Glu Thr His Phe Thr Phe Lys Asn Leu His Phe Arg Leu Phe Asp Val			

190	195	200	
ggg ggc cag cga tct gaa cgc aag aag tgg atc cac tgc ttt gag gat			677
Gly Gly Gln Arg Ser Glu Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu Asp			
205	210	215	
gtc acg gcc atc atc ttc tgt gtc gca ctc agc ggc tat gac cag gtg			725
Val Thr Ala Ile Ile Phe Cys Val Ala Leu Ser Gly Tyr Asp Gln Val			
220	225	230	
ctc cac gag gac gaa acc acg aac cgc atg cac gaa tcc ctg aag ctc			773
Leu His Glu Asp Glu Thr Thr Asn Arg Met His Glu Ser Leu Lys Leu			
235	240	245 250	
ttc gac agc atc tgc aac aac aag tgg ttc aca gac aca tct att atc			821
Phe Asp Ser Ile Cys Asn Asn Lys Trp Phe Thr Asp Thr Ser Ile Ile			
255	260	265	
ctg ttt ctc aac aag aag gac ata ttt gag gag aag atc aag aag tcc			869
Leu Phe Leu Asn Lys Lys Asp Ile Phe Glu Glu Lys Ile Lys Lys Ser			
270	275	280	
cca ctc acc atc tgc ttt cct gaa tac aca ggc ccc agt gcc ttc aca			917
Pro Leu Thr Ile Cys Phe Pro Glu Tyr Thr Gly Pro Ser Ala Phe Thr			
285	290	295	
gaa gct gtg gct cac atc caa ggg cag tat gag agt aag aat aag tca			965
Glu Ala Val Ala His Ile Gln Gly Gln Tyr Glu Ser Lys Asn Lys Ser			
300	305	310	
gct cac aag gaa gtc tac agc cat gtc acc tgt gcc acg gac acc aac			1013
Ala His Lys Glu Val Tyr Ser His Val Thr Cys Ala Thr Asp Thr Asn			
315	320	325 330	
aac atc caa ttc gtc ttt gat gcc gtg aca gat gtc atc atc gcc aaa			1061
Asn Ile Gln Phe Val Phe Asp Ala Val Thr Asp Val Ile Ile Ala Lys			

335	340	345	
aac cta cgg ggc tgt gga ctc tac tga gccctggcct cctacccagc			1108
Asn Leu Arg Gly Cys Gly Leu Tyr			
350			
ctgccactca ctctctccct ggacccagag ctctgtcact gctcagatgc cctgttaact			1168
gaagaaaacc tggaggctag ccttgggggc aggaggaggc atcctttgag catccccacc			1228
ccaccaact tcagcctcgt gacacgtggg aacagggttg ggcagaggtg tggaacagca			1288
caaggccaga gaccacggca tgccacttgg gtgctgctca ctggtcagct gtgtgtctta			1348
cacagaggcc gagtgggcaa cactgccatc tgattcagaa tgggcatgcc ctgtcctctg			1408
tacctcttgt tcagtgtcct ggtttctctt ccaccttggt gataggatgg ctggcaggaa			1468
ggcccatgg aaggtgctgc ttgattaggg gatagtogat ggcctctctc agcagtcctc			1528
agggtctgtt tggtagagg tggtttcgtc gacaaaagcc aacatggaat caggccactt			1588
ttggggcgca aagactcaga ctttggggac gggttccctc ctcttctact ttggatcttg			1648
gccctctctt ggtcatcttc ccttgccctt gggctcccca ggatactcag cctgactcc			1708
catggggttg ggaatattcc ttaagactgg ctgactgcaa aggtcaccga tggagaaaca			1768
tccctgtgct acagaattgg gggtagggaca gctgaggggg caggoggctc ttctctgata			1828
gttgatgaca agccctgaga atgccatctg ctggctccac tcacacgggc tcaactgtcc			1888
tgggtgatag tgacttgcca ggccacaggc tgcaggtcac agacagagca ggcaagcagc			1948
cttgcaactg cagattactt aggagagaagc atoggggcct cgtgagccag gccccgtagc			2008

cagtgccttg ctttactcca gccttgggtca ggaagtcgaa agcccttggt gtattcctgg 2068
 tctcggagca aataatgagc cagcaccctg aagggtgggc tccaactcag acatgcagcc 2128
 agccccctag gtgggtaaac gccctaggga cctagggaga gcctttgctg cagagattcc 2188
 taagcaaaac ggcgtgggtg agctttggca accctagccc cagctaactt tggacagtca 2248
 gcatatgtcc ctgccatccc tagacatctc cagtcagctg gtatcacagc cagtggttca 2308
 gacaggtttg aatgctcatg tggca
 2333

<210> 40
 <211> 354
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 40

Met Gly Cys Thr Leu Ser Ala Glu Glu Arg Ala Ala Leu Glu Arg Ser
 1 5 10 15

Lys Ala Ile Glu Lys Asn Leu Lys Glu Asp Gly Ile Ser Ala Ala Lys
 20 25 30

Asp Val Lys Leu Leu Leu Leu Gly Ala Gly Glu Ser Gly Lys Ser Thr
 35 40 45

Ile Val Lys Gln Met Lys Ile Ile His Glu Asp Gly Phe Ser Gly Glu
 50 55 60

Asp Val Lys Gln Tyr Lys Pro Val Val Tyr Ser Asn Thr Ile Gln Ser
65 70 75 80

Leu Ala Ala Ile Val Arg Ala Met Asp Thr Leu Gly Val Glu Tyr Gly
85 90 95

Asp Lys Glu Arg Lys Thr Asp Ser Lys Met Val Cys Asp Val Val Ser
100 105 110

Arg Met Glu Asp Thr Glu Pro Phe Ser Ala Glu Leu Leu Ser Ala Met
115 120 125

Met Arg Leu Trp Gly Asp Ser Gly Ile Gln Glu Cys Phe Asn Arg Ser
130 135 140

Arg Glu Tyr Gln Leu Asn Asp Ser Ala Lys Tyr Tyr Leu Asp Ser Leu
145 150 155 160

Asp Arg Ile Gly Ala Gly Asp Tyr Gln Pro Thr Glu Gln Asp Ile Leu
165 170 175

Arg Thr Arg Val Lys Thr Thr Gly Ile Val Glu Thr His Phe Thr Phe
180 185 190

Lys Asn Leu His Phe Arg Leu Phe Asp Val Gly Gly Gln Arg Ser Glu
195 200 205

Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu Asp Val Thr Ala Ile Ile Phe
210 215 220

Cys Val Ala Leu Ser Gly Tyr Asp Gln Val Leu His Glu Asp Glu Thr
225 230 235 240

Thr Asn Arg Met His Glu Ser Leu Lys Leu Phe Asp Ser Ile Cys Asn
245 250 255

Asn Lys Trp Phe Thr Asp Thr Ser Ile Ile Leu Phe Leu Asn Lys Lys
260 265 270

Asp Ile Phe Glu Glu Lys Ile Lys Lys Ser Pro Leu Thr Ile Cys Phe
275 280 285

Pro Glu Tyr Thr Gly Pro Ser Ala Phe Thr Glu Ala Val Ala His Ile
290 295 300

Gln Gly Gln Tyr Glu Ser Lys Asn Lys Ser Ala His Lys Glu Val Tyr
305 310 315 320

Ser His Val Thr Cys Ala Thr Asp Thr Asn Asn Ile Gln Phe Val Phe
325 330 335

Asp Ala Val Thr Asp Val Ile Ile Ala Lys Asn Leu Arg Gly Cys Gly
340 345 350

Leu Tyr

<210> 41
 <211> 1135
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<300>
 <308> M87286
 <309> 1993-04-27
 <313> (1).. (1135)

<220>
 <221> CDS
 <222> (41).. (1063)

<400> 41
 gctcttcact tgagacgcct gagggaaacc accaggcagg atg agc gag ctg gag 55
 Met Ser Glu Leu Glu
 1 5
 cag ctg agg cag gag gct gaa cag ctt cgg aat cag atc cag gat gct 103
 Gln Leu Arg Gln Glu Ala Glu Gln Leu Arg Asn Gln Ile Gln Asp Ala
 10 15 20
 cgg aag gcc tgc aac gat gcc acg ctg gtt cag atc acg tct aat atg 151
 Arg Lys Ala Cys Asn Asp Ala Thr Leu Val Gln Ile Thr Ser Asn Met
 25 30 35
 gac tcc gtg ggc cga ata caa atg cga aca agg cgc acg ctg cgt ggc 199
 Asp Ser Val Gly Arg Ile Gln Met Arg Thr Arg Arg Thr Leu Arg Gly
 40 45 50

cac ctc gct aag atc tac gcc atg cac tgg gga tat gat tcc agg cta	247
His Leu Ala Lys Ile Tyr Ala Met His Trp Gly Tyr Asp Ser Arg Leu	
55 60 65	
cta gtc agt gct tcg caa gat gga aaa tta att att tgg gat agc tat	295
Leu Val Ser Ala Ser Gln Asp Gly Lys Leu Ile Ile Trp Asp Ser Tyr	
70 75 80 85	
acg aca aat aag atg cac gcc atc cct ctg agg tcc tcc tgg gtg atg	343
Thr Thr Asn Lys Met His Ala Ile Pro Leu Arg Ser Ser Trp Val Met	
90 95 100	
acc tgt gcc tac gcc ccg tcc ggg aac tac gtt gcc tgt gga ggc ttg	391
Thr Cys Ala Tyr Ala Pro Ser Gly Asn Tyr Val Ala Cys Gly Gly Leu	
105 110 115	
gat aac atc tgc tcc ata tac aac cta aag acc cga gag gga gat gtg	439
Asp Asn Ile Cys Ser Ile Tyr Asn Leu Lys Thr Arg Glu Gly Asp Val	
120 125 130	
cgg gtg agc cga gaa ttg gca gga cac acg ggc tac ttg tcc tgc tgc	487
Arg Val Ser Arg Glu Leu Ala Gly His Thr Gly Tyr Leu Ser Cys Cys	
135 140 145	
cga ttc tta gat gat gga caa atc att aca agt tcg gga gac acg act	535
Arg Phe Leu Asp Asp Gly Gln Ile Ile Thr Ser Ser Gly Asp Thr Thr	
150 155 160 165	
tgt gct ttg tgg gac att gag acc gga cag cag act acg acc ttc aca	583
Cys Ala Leu Trp Asp Ile Glu Thr Gly Gln Gln Thr Thr Thr Phe Thr	
170 175 180	
gga cac tcg ggt gac gtg atg agc ctc tca ctg agt cct gac ttg aag	631
Gly His Ser Gly Asp Val Met Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Leu Lys	
185 190 195	

acg ttt gtg tct ggt gct tgt gat gca tcc tca aag ctg tgg gat atc	679
Thr Phe Val Ser Gly Ala Cys Asp Ala Ser Ser Lys Leu Trp Asp Ile	
200 205 210	
cga gat ggg atg tgt aga cag tct ttc acc gga cac atc tca gac atc	727
Arg Asp Gly Met Cys Arg Gln Ser Phe Thr Gly His Ile Ser Asp Ile	
215 220 225	
aac gct gtc agt ttc ttc ccg agt gga tat gcc ttt gcc act ggt tct	775
Asn Ala Val Ser Phe Phe Pro Ser Gly Tyr Ala Phe Ala Thr Gly Ser	
230 235 240 245	
gat gat gcc aca tgc cga ctc ttt gac ctc cgt gca gac cag gag ctc	823
Asp Asp Ala Thr Cys Arg Leu Phe Asp Leu Arg Ala Asp Gln Glu Leu	
250 255 260	
ctg cta tac tct cat gac aat atc atc tgt ggc att act tct gtg gcc	871
Leu Leu Tyr Ser His Asp Asn Ile Ile Cys Gly Ile Thr Ser Val Ala	
265 270 275	
ttc tca aag agt ggg cgc ctc ctg tta gcc ggc tat gac gac ttc aac	919
Phe Ser Lys Ser Gly Arg Leu Leu Leu Ala Gly Tyr Asp Asp Phe Asn	
280 285 290	
tgc agt gtg tgg gac gct ctg aaa gga ggc cgg tca ggt gtc ctt gct	967
Cys Ser Val Trp Asp Ala Leu Lys Gly Gly Arg Ser Gly Val Leu Ala	
295 300 305	
ggt cat gac aac cgt gtt agc tgc tta ggt gtg act gat gac ggc atg	1015
Gly His Asp Asn Arg Val Ser Cys Leu Gly Val Thr Asp Asp Gly Met	
310 315 320 325	
gct gtg gcc act ggc tcc tgg gac agt ttt ctt aga atc tgg aat tga	1063
Ala Val Ala Thr Gly Ser Trp Asp Ser Phe Leu Arg Ile Trp Asn	
330 335 340	

gtgccatatt ttctgttctc caatgatacc tggagaaatc cgtgttacag cctatagctg 1123

tgaggaaaaa aa

1135

<210> 42

<211> 340

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 42

Met Ser Glu Leu Glu Gln Leu Arg Gln Glu Ala Glu Gln Leu Arg Asn
1 5 10 15

Gln Ile Gln Asp Ala Arg Lys Ala Cys Asn Asp Ala Thr Leu Val Gln
20 25 30

Ile Thr Ser Asn Met Asp Ser Val Gly Arg Ile Gln Met Arg Thr Arg
35 40 45

Arg Thr Leu Arg Gly His Leu Ala Lys Ile Tyr Ala Met His Trp Gly
50 55 60

Tyr Asp Ser Arg Leu Leu Val Ser Ala Ser Gln Asp Gly Lys Leu Ile
65 70 75 80

Ile Trp Asp Ser Tyr Thr Thr Asn Lys Met His Ala Ile Pro Leu Arg
85 90 95

Ser Ser Trp Val Met Thr Cys Ala Tyr Ala Pro Ser Gly Asn Tyr Val
100 105 110

Ala Cys Gly Gly Leu Asp Asn Ile Cys Ser Ile Tyr Asn Leu Lys Thr
115 120 125

Arg Glu Gly Asp Val Arg Val Ser Arg Glu Leu Ala Gly His Thr Gly
130 135 140

Tyr Leu Ser Cys Cys Arg Phe Leu Asp Asp Gly Gln Ile Ile Thr Ser
145 150 155 160

Ser Gly Asp Thr Thr Cys Ala Leu Trp Asp Ile Glu Thr Gly Gln Gln
165 170 175

Thr Thr Thr Phe Thr Gly His Ser Gly Asp Val Met Ser Leu Ser Leu
180 185 190

Ser Pro Asp Leu Lys Thr Phe Val Ser Gly Ala Cys Asp Ala Ser Ser
195 200 205

Lys Leu Trp Asp Ile Arg Asp Gly Met Cys Arg Gln Ser Phe Thr Gly
210 215 220

His Ile Ser Asp Ile Asn Ala Val Ser Phe Phe Pro Ser Gly Tyr Ala
225 230 235 240

Phe Ala Thr Gly Ser Asp Asp Ala Thr Cys Arg Leu Phe Asp Leu Arg
245 250 255

Ala Asp Gln Glu Leu Leu Leu Tyr Ser His Asp Asn Ile Ile Cys Gly
260 265 270

Ile Thr Ser Val Ala Phe Ser Lys Ser Gly Arg Leu Leu Leu Ala Gly
275 280 285

Tyr Asp Asp Phe Asn Cys Ser Val Trp Asp Ala Leu Lys Gly Gly Arg
290 295 300

Ser Gly Val Leu Ala Gly His Asp Asn Arg Val Ser Cys Leu Gly Val
305 310 315 320

Thr Asp Asp Gly Met Ala Val Ala Thr Gly Ser Trp Asp Ser Phe Leu
325 330 335

Arg Ile Trp Asn
340

<210> 43

<211> 307

<212> DNA

<213> Mus musculus

<300>

<308> U37527

<309> 1997-12-30

<313> (1).. (307)

<220>

<221> CDS

<222> (40).. (267)

<400> 43

tccaagctgc tgtaccacct ctcagcaggg agtgcagga atg aag gaa ggc atg	54
Met Lys Glu Gly Met	
1 5	

tct aat aac agc acc acc agc atc tcc cag gcc agg aaa gcc gtg gag	102
Ser Asn Asn Ser Thr Thr Ser Ile Ser Gln Ala Arg Lys Ala Val Glu	
10 15 20	

cag ctg aag atg gaa gcc tgc atg gac agg gtg aag gtc tcc cag gct	150
Gln Leu Lys Met Glu Ala Cys Met Asp Arg Val Lys Val Ser Gln Ala	
25 30 35	

gcc tca gac ctc ctg gcc tac tgt gaa gcc cac gtg cgg gag gac ccc	198
Ala Ser Asp Leu Leu Ala Tyr Cys Glu Ala His Val Arg Glu Asp Pro	
40 45 50	

ctc atc atc cca gtg cct gcc tca gaa aac ccc ttc cgg gag aag aag	246
Leu Ile Ile Pro Val Pro Ala Ser Glu Asn Pro Phe Arg Glu Lys Lys	
55 60 65	

ttc ttc tgc acc atc ctc taa caccatggc gatgaagcgg gccctttcct	297
Phe Phe Cys Thr Ile Leu	
70 75	

gctgtaacag

307

<210> 44
<211> 75
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 44

Met Lys Glu Gly Met Ser Asn Asn Ser Thr Thr Ser Ile Ser Gln Ala
1 5 10 15

Arg Lys Ala Val Glu Gln Leu Lys Met Glu Ala Cys Met Asp Arg Val
20 25 30

Lys Val Ser Gln Ala Ala Ser Asp Leu Leu Ala Tyr Cys Glu Ala His
35 40 45

Val Arg Glu Asp Pro Leu Ile Ile Pro Val Pro Ala Ser Glu Asn Pro
50 55 60

Phe Arg Glu Lys Lys Phe Phe Cys Thr Ile Leu
65 70 75

<210> 45
<211> 2666
<212> DNA
<213> Mus musculus

<300>
<308> BC023729

<309> 2003-04-16

<313> (1).. (2666)

<220>

<221> CDS

<222> (252).. (2219)

<400> 45

ccacgcgtcc ggccccagcg caacgcgcag cagcctccct cctcttcttc ccgcactgtg 60

cgctcctcct gggctagggc gtctggatcg agtcccggag gctaccgcct ccagacaga 120

cgacaggtca cctggacgcg agcctgtgtc cgggtctcgt cgttgccggc gcagtcactg 180

ggcacaaccg tgggactccg tctgtctcgg attaatcccg gagagccaga gccaacctct 240

cccggtcaga g atg cga ccc tca ggg acc gcg aga acc aca ctg ctg gtg 290

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Arg Thr Thr Leu Leu Val

1

5

10

ttg ctg acc gcg ctc tgc gcc gca ggt ggg gcg ttg gag gaa aag aaa 338

Leu Leu Thr Ala Leu Cys Ala Ala Gly Gly Ala Leu Glu Glu Lys Lys

15

20

25

gtc tgc caa ggc aca agt aac agg ctc acc caa ctg ggc act ttt gaa 386

Val Cys Gln Gly Thr Ser Asn Arg Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu

30

35

40

45

gac cac ttt ctg agc ctg cag agg atg tac aac aac tgt gaa gtg gtc 434

Asp His Phe Leu Ser Leu Gln Arg Met Tyr Asn Asn Cys Glu Val Val

50

55

60

ctt ggg aac ttg gaa att acc tat gtg caa agg aat tac gac ctt tcc 482

Leu Gly Asn Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser

65

70

75

ttc tta aag acc atc cag gag gtg gcc ggc tat gtc ctc att gcc ctc	530
Phe Leu Lys Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu	
80 85 90	
aac acc gtg gag aga atc cct ttg gag aac ctg cag atc atc agg gga	578
Asn Thr Val Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly	
95 100 105	
aat gct ctt tat gaa aac acc tat gcc tta gcc atc ctg tcc aac tat	626
Asn Ala Leu Tyr Glu Asn Thr Tyr Ala Leu Ala Ile Leu Ser Asn Tyr	
110 115 120 125	
ggg aca aac aga act ggg ctt agg gaa ctg ccc atg cgg aac tta cag	674
Gly Thr Asn Arg Thr Gly Leu Arg Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln	
130 135 140	
gaa atc ctg att ggt gct gtg cga ttc agc aac aac ccc atc ctc tgc	722
Glu Ile Leu Ile Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ile Leu Cys	
145 150 155	
aat atg gat act atc cag tgg agg gac atc gtc caa aac gtc ttt atg	770
Asn Met Asp Thr Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Gln Asn Val Phe Met	
160 165 170	
agc aac atg tca atg gac tta cag agc cat ccg agc agt tgc ccc aaa	818
Ser Asn Met Ser Met Asp Leu Gln Ser His Pro Ser Ser Cys Pro Lys	
175 180 185	
tgt gat cca agc tgt ccc aat gga agc tgc tgg gga gga gga gag gag	866
Cys Asp Pro Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Gly Gly Glu Glu	
190 195 200 205	
aac tgc cag aaa ttg acc aaa atc atc tgt gcc cag caa tgt tcc cat	914
Asn Cys Gln Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser His	
210 215 220	

cgc tgt cgt ggc agg tcc ccc agt gac tgc tgc cac aac caa tgt gct	962
Arg Cys Arg Gly Arg Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala	
225 230 235	
gcg ggg tgt aca ggg ccc cga gag agt gac tgt ctg gtc tgc caa aag	1010
Ala Gly Cys Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Gln Lys	
240 245 250	
ttc caa gat gag gcc aca tgc aaa gac acc tgc cca cca ctc atg ctg	1058
Phe Gln Asp Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu	
255 260 265	
tac aac ccc acc acc tat cag atg gat gtc aac cct gaa ggg aag tac	1106
Tyr Asn Pro Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr	
270 275 280 285	
agc ttt ggt gcc acc tgt gtg aag aag tgc ccc cga aac tac gtg gtg	1154
Ser Phe Gly Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val	
290 295 300	
aca gat cat ggc tca tgt gtc cga gcc tgt ggg cct gac tac tac gaa	1202
Thr Asp His Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Pro Asp Tyr Tyr Glu	
305 310 315	
gtg gaa gaa gat ggc atc cgc aag tgt aaa aaa tgt gat ggg ccc tgt	1250
Val Glu Glu Asp Gly Ile Arg Lys Cys Lys Lys Cys Asp Gly Pro Cys	
320 325 330	
cgc aaa gtt tgt aat ggc ata ggc att ggt gaa ttt aaa gac aca ctc	1298
Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Thr Leu	
335 340 345	
tcc ata aat gct aca aac atc aaa cac ttc aaa tac tgc act gcc atc	1346
Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Tyr Cys Thr Ala Ile	
350 355 360 365	

agc ggg gac ctt cac atc ctg cca gtg gcc ttt aag ggg gat tot ttc	1394
Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Lys Gly Asp Ser Phe	
370 375 380	
acg cgc act cct cct cta gac cca cga gaa cta gaa att cta aaa acc	1442
Thr Arg Thr Pro Pro Leu Asp Pro Arg Glu Leu Glu Ile Leu Lys Thr	
385 390 395	
gta aag gaa ata aca ggc ttt ttg ctg att cag gct tgg cct gat aac	1490
Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Asp Asn	
400 405 410	
tgg act gac ctc cat gct ttc gag aac cta gaa ata ata cgt ggc aga	1538
Trp Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg	
415 420 425	
aca aag caa cat ggt cag ttt tot ttg ggc gtc gtt ggc ctg aac atc	1586
Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Gly Leu Asn Ile	
430 435 440 445	
aca tca ctg ggg ctg cgt tcc ctc aag gag atc agt gat ggg gat gtg	1634
Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val	
450 455 460	
atc att tot gga aac cga aat ttg tgc tac gca aac aca ata aac tgg	1682
Ile Ile Ser Gly Asn Arg Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp	
465 470 475	
aaa aaa ctc ttc ggg aca ccc aat cag aaa acc aaa atc atg aac aac	1730
Lys Lys Leu Phe Gly Thr Pro Asn Gln Lys Thr Lys Ile Met Asn Asn	
480 485 490	
aga gct gag aaa gac tgc aag gcc gtg aac cac gtc tgc aat cct tta	1778
Arg Ala Glu Lys Asp Cys Lys Ala Val Asn His Val Cys Asn Pro Leu	
495 500 505	

tgc tgc tgc gaa ggc tgc tgg ggc cct gag ccc agg gac tgt gtc tcc Cys Ser Ser Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser 510 515 520 525	1826
tgc cag aat gtg agc aga ggc agg gag tgc gtg gag aaa tgc aac atc Cys Gln Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Glu Lys Cys Asn Ile 530 535 540	1874
ctg gag ggg gaa cca agg gag ttt gtg gaa aat tct gaa tgc atc cag Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln 545 550 555	1922
tgc cat cca gaa tgt ctg ccc cag gcc atg aac atc acc tgt aca ggc Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly 560 565 570	1970
agg gga cca gac aac tgc atc cag tgt gcc cac tac att gat ggc cca Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro 575 580 585	2018
cac tgt gtc aag acc tgc cca gct ggc atc atg gga gag aac aac act His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Ile Met Gly Glu Asn Asn Thr 590 595 600 605	2066
ctg gtc tgg aag tat gca gat gcc aat aat gtc tgc cac cta tgc cac Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Asn Asn Val Cys His Leu Cys His 610 615 620	2114
gcc aac tgt acc tat gga tgt gct ggg cca ggt ctt caa gga tgt gaa Ala Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Ala Gly Pro Gly Leu Gln Gly Cys Glu 625 630 635	2162
gtg tgg cca tct ggg tac gtt caa tgg cag tgg atc tta aag acc ttt Val Trp Pro Ser Gly Tyr Val Gln Trp Gln Trp Ile Leu Lys Thr Phe 640 645 650	2210

tgg atc taa gaccagaagc catctctgac tocccctotca ccttccagtt 2259
 Trp Ile
 655

tcttccaaat cctctgggcc agccagaggt ctcagattct gccctcttgc cctgtgcccc 2319

ccttgttgac cactggacag catatgtgat ggctactgct agtgccagct tcacaagagg 2379

ttaacactac ggactagcca ttcttcctat gtatctgttt ctgcaaatac agccgcttta 2439

cttaagtctc agcacttctt agtctcctct ttctctctca gtagcccaag gggtcatgtc 2499

acaaacatgg tgtgaagggc tactttgtca aatgaaaagg tctatcttgg ggggcatttt 2559

tttcttttct ttttttcttg aaacacattg cccagcaaag ccaataaatt totctcatca 2619

ttttgtttct gataaattct tactattgat aaaaaaaaaa aaaaaaa 2666

<210> 46

<211> 655

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 46

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Arg Thr Thr Leu Leu Val Leu Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Leu Cys Ala Ala Gly Gly Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
 20 25 30

Gly Thr Ser Asn Arg Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe

35	40	45
Leu Ser Leu Gln Arg Met Tyr Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn		
50	55	60
Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys		
65	70	75 80
Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val		
85	90	95
Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Ala Leu		
100	105	110
Tyr Glu Asn Thr Tyr Ala Leu Ala Ile Leu Ser Asn Tyr Gly Thr Asn		
115	120	125
Arg Thr Gly Leu Arg Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu		
130	135	140
Ile Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ile Leu Cys Asn Met Asp		
145	150	155 160
Thr Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Gln Asn Val Phe Met Ser Asn Met		
165	170	175
Ser Met Asp Leu Gln Ser His Pro Ser Ser Cys Pro Lys Cys Asp Pro		

180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Gly Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser His Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Arg Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Gln Lys Phe Gln Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Pro Asp Tyr Tyr Glu Val Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Ile Arg Lys Cys Lys Lys Cys Asp Gly Pro Cys Arg Lys Val

325 330 335
Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Thr Leu Ser Ile Asn
340 345 350
Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Tyr Cys Thr Ala Ile Ser Gly Asp
355 360 365
Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Lys Gly Asp Ser Phe Thr Arg Thr
370 375 380
Pro Pro Leu Asp Pro Arg Glu Leu Glu Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400
Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Asp Asn Trp Thr Asp
405 410 415
Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
420 425 430
His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Gly Leu Asn Ile Thr Ser Leu
435 440 445
Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
450 455 460
Gly Asn Arg Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu

465 470 475 480

Phe Gly Thr Pro Asn Gln Lys Thr Lys Ile Met Asn Asn Arg Ala Glu
485 490 495

Lys Asp Cys Lys Ala Val Asn His Val Cys Asn Pro Leu Cys Ser Ser
500 505 510

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Gln Asn
515 520 525

Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Glu Lys Cys Asn Ile Leu Glu Gly
530 535 540

Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
545 550 555 560

Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
565 570 575

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
580 585 590

Lys Thr Cys Pro Ala Gly Ile Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
595 600 605

Lys Tyr Ala Asp Ala Asn Asn Val Cys His Leu Cys His Ala Asn Cys

610

615

620

Thr Tyr Gly Cys Ala Gly Pro Gly Leu Gln Gly Cys Glu Val Trp Pro
 625 630 635 640

Ser Gly Tyr Val Gln Trp Gln Trp Ile Leu Lys Thr Phe Trp Ile
 645 650 655

<210> 47

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> anti-EGFP siRNA

<400> 47

aagcagcagg acuucuuc aa g

21

<210> 48

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> scrambled II Duplex RNA

<400> 48

aagcgcgcuu uguaggauuc g

21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/009404

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/00, C12Q1/68, G06F17/00, G06T15/00, G06T17/00,
C12M1/00, G01N33/50, G01N33/15

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/00-15/90, C12N1/00-9/99, C12Q1/00-70, G01N33/00-98,
G06F17/00-19/00, G06T1/00-17/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI (STN), BIOSIS (STN), MEDLINE (STN), SwissProt/PIR/GeneSeq,
Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/Y	WO 02/07100 A1 (Takashi GOJOBORI), 24 January, 2002 (24.01.02), & JP 2002-085094 A & JP 3517644 B & EP 1302901 A1 & US 2002/0150941 A1	1-9, 12-14, 24-34, 39-54, 57-66, 82-99, 103-109/10, 11, 15-23, 35-38
X/Y	WO 99/60094 A2 (Forschungszentrum Julich GMBH), 25 November, 1999 (25.11.99), & JP 2002-515589 A & EP 1078039 A1	67-79, 82-100, 103-127/80, 81, 101, 102
X	WO 98/06874 A1 (Univ. California), 19 February, 1998 (19.02.98), & JP 11-512603 A & EP 862649 B1	128-133

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
28 September, 2004 (28.09.04)

Date of mailing of the international search report
18 January, 2005 (18.01.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/009404

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 00/03246 A1 (CELLOMICS INC.), 20 January, 2000 (20.01.00), & JP 2002-520595 A & JP 3466568 B & EP 1095277 B1 & US 6759206 B1	67-81, 100-127
A	WO 01/63245 A2 (Technology Partnership PLC.), 30 August, 2001 (30.08.01), & JP 2003-524177 A & EP 1257804 A2 & US 2003/0100024 A1	1-144

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/009404

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

a. type of material

☒ a sequence listing

☐ table(s) related to the sequence listing

b. format of material

☐ in written format

☒ in computer readable form

c. time of filing/furnishing

☐ contained in the international application as filed

☒ filed together with the international application in computer readable form

☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁷ C12N 15/00, C12Q 1/68, G06F 17/00, G06T 15/00, G06T 17/00, C12M 1/00, G01N 33/50, G01N 33/15

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁷ C12N 15/00 ~ 15/90, C12N 1/00 ~ 9/99, C12Q 1/00 ~ 70, G01N 33/00 ~ 98, G06F 17/00 ~ 19/00, G06T 1/00 ~ 17/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI(STN), BIOSIS(STN), MEDLINE(STN)
SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X / Y	WO 02/07100 A1 (五條堀 孝) 2002.01.24 & JP 2002-085094 A & JP 3517644 B & EP 1302901 A1 & US 2002/0150941 A1	1-9, 12-14, 24-34, 39-54, 57-66, 82-99, 103-109 / 10, 11, 15-23, 35-38
X / Y	WO 99/60094 A2 (Forschungszentrum Julich GMBH) 1999.11.25 & JP 2002-515589 A & EP 1078039 A1	67-79, 82-100 103-127/80, 81, 101, 102

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28.09.2004

国際調査報告の発送日

18.1.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齊藤 真由美

4B

8931

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO 98/06874 A1 (Univ. California) 1998.02.19 & JP 11-512603 A & EP 862649 B1	128-133
Y	WO 00/03246 A1 (CELLOMICS INC.) 2000.01.20 & JP 2002-520595 A & JP 3466568 B & EP 1095277 B1 & US 6759206 B1	67-81, 100-127
A	WO 01/63245 A2 (Technology Partnership PLC.) 2001.08.30 & JP 2003-524177 A & EP 1257804 A2 & US 2003/0100024 A1	1-144

第 I 欄 スクレオチド又はアミノ酸配列 (第 1 ページの 1. b の続き)

1. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に必要なスクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際調査を行った。

a. タイプ

☒ 配列表

☐ 配列表に関連するテーブル

b. フォーマット

☐ 書面

☒ コンピュータ読み取り可能な形式

c. 提出時期

☐ 出願時の国際出願に含まれる

☒ この国際出願と共にコンピュータ読み取り可能な形式により提出された

☐ 出願後に、調査のために、この国際調査機関に提出された

2. ☒ さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見：

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.